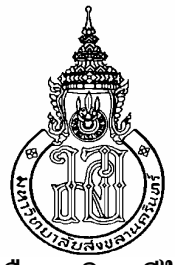


การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

Development of Prebiotic Fortified Soybean Milk for Elderly Consumers

ภัคธีมา สุขพันธ์

Phakkhateema Sugkhaphan

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science in Food Science and Technology

Prince of Songkla University

2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ
ผู้เขียน นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์
สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

...
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์)

คณะกรรมการสอบ

……..…..ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพิชญา จันทะชุม)

…….....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์)

…….....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธงชัย สุวรรณสิชณ์)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

……
(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

ผู้เขียน นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2552

บทคัดย่อ

การอภิปรายกลุ่มเพื่อหาแนวความคิดของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองจากผู้บริโภคสูงอายุ (อายุ 60 ปีขึ้นไป) ในจังหวัดสงขลา จำนวน 4 กลุ่ม รวมทั้งหมด 40 คน พบว่าผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ผู้บริโภคสูงอายุต้องการคือ นมถั่วเหลืองพาสเจอร์ไรซ์ บรรจุในกล่องกระดาษ โดยคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความข้นหนืดในระดับน้อยถึงปานกลาง มีสีขาวครีม มีกลิ่นรสถั่วปานกลาง หวานน้อย และไม่ให้ความรู้สึกทางประสาทสัมผัสในด้านลบภายหลังการเติมสารพรีไบโอติก การศึกษาอัตราส่วนของพรีไบโอติกที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยใช้แผนการทดลองแบบผสม โดยเติมอินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) ในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเปรียบเทียบนมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตร ด้วยวิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา และการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก (*B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 and *L. acidophilus* TISTR 1034) จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านสี ความข้น กลิ่นรสถั่ว รสหวาน ความข้นหนืด และรสหวานภายหลังการกลืน พบว่าทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) พรีไบโอติกผสมที่เติมลงไปนั้นมีผลต่อสีและความข้นหนืดของนมถั่วเหลืองเล็กน้อย ($p<0.05$) ผลของการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกแสดงให้เห็นว่า GOS สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกทั้งสามชนิดได้ดีที่สุด ขณะที่ I สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ต่ำสุด ($p<0.05$) อัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมคือ I, GOS และ IMO ร้อยละ 11, 62 และ 27 ตามลำดับ ซึ่งพิจารณาจากการส่งเสริมโพรไบโอติกสูงสุด โดยสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456 จาก 6.58 เป็น 7.54 log CFU/ml (การหมัก 48 ชั่วโมง), *L. plantarum* TISTR 875 จาก 6.59 เป็น 8.65 log CFU/ml (การหมัก 24 ชั่วโมง) และ *L. acidophilus* TISTR 1034 จาก 6.83 เป็น 8.44 log CFU/ml (การหมัก 24 ชั่วโมง) พรีไบโอติกอัตราส่วนดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ไม่แตกต่างกับกลูโคส ($p>0.05$)

นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมนี้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด และความหนืดมากกว่าสูตรควบคุม (สูตรที่ไม่เสริมพรีไบโอติก) ($p<0.05$) ในขณะที่มีค่า L^* น้อยกว่า และ a^* มากกว่าสูตรควบคุมตามลำดับ ($p<0.05$) ผลจากวิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา แสดงให้เห็นว่านมถั่วเหลืองเสริม

พรีไบโอติกมีคะแนนในด้านสี ความหนืด และกลิ่นรสถั่วไม่แตกต่างกับนมถั่วเหลืองสูตรควบคุม ($p>0.05$) แต่มีความหวาน ความข้นหนืด และรสหวาน (ในปากและคอ) มากกว่า ($p<0.05$) จากการลดปริมาณน้ำตาลในสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกลงจากร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นร้อยละ 2.6 เพื่อให้มีระดับความหวานใกล้เคียงกับนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง พบว่าคุณภาพทางประสาทสัมผัสในทุกด้านของนมถั่วเหลืองสูตรดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกับนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง ($p>0.05$)

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าการเก็บรักษาไม่มีผลต่อความคงตัวของสารแขวนลอย (ค่าดัชนีการแยกชั้น = 1.00) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน อย่างไรก็ตาม นมถั่วเหลืองเริ่มมีการตกตะกอน (ค่าดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย = 0.99) หลังจากการเก็บรักษา 21 วัน จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีฮีโดนิคสเกล แบบ 9 ระดับคะแนน พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อความชอบด้านลักษณะปรากฏ และสีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ($p>0.05$) ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่น และความชอบโดยรวมมีคะแนนลดลงเมื่อเก็บรักษา 25 วัน และ ที่ 30 วัน มีคะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยเท่ากับ 6.37 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 30 มีค่าน้อยกว่า 30 CFU/ml

จากการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุ ในจังหวัดสงขลา จำนวน 200 คน ต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุที่ได้รับการพัฒนา พบว่าผู้บริโภคมีความชอบต่อผลิตภัณฑ์ในด้านสี กลิ่นรสถั่ว ความหวาน ความข้นหนืด และความชอบโดยรวม โดยวิธีฮีโดนิคสเกล แบบ 9 ระดับคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.44, 7.41, 7.42, 7.46 และ 7.38 ตามลำดับ ผู้บริโภคมีค่าคะแนนความตั้งใจซื้อผลิตภัณฑ์ในราคากล่องละ 12 บาท (200 มิลลิลิตร/กล่อง) เฉลี่ยเท่ากับ 6.84 โดยมีผู้บริโภคร้อยละ 32 คิดว่าจะซื้อแน่นอน และหากมีข้อมูลบ่งชี้เพิ่มเติมให้ผู้บริโภคทราบถึงคุณประโยชน์ของพรีไบโอติกที่เสริมในผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าคะแนนความตั้งใจซื้อเฉลี่ยสูงขึ้นเป็น 7.94 โดยมีผู้บริโภคคิดว่าจะซื้อแน่นอนเพิ่มขึ้นเป็น ร้อยละ

Thesis Title Development of Prebiotic Fortified Soybean Milk for Elderly Consumers

Author Miss Phakkhateema Sugkhaphan

Major Program Food Science and Technology

Academic Year 2009

ABSTRACT

To investigate prebiotic fortified soybean milk product concept, four consumer focus group interviews were conducted, involving a total of 40 participants in Songkla province. The product concepts were the pasteurized soybean milk contained in the carton box. Sensory characteristics of the product were low to moderate viscosity, creamy white color, moderate beany flavor, low sweetness and no negative perception after adding prebiotic. A mixture experiment was used to optimize prebiotic mixture in soybean milk formulation. Inulin (I), galacto-oligosaccharides (GOS) and isomalto-oligisaccharides (IMO) were the prebiotic ingredients added (4% w/v) to soybean milk. Thirteen formulations of soybean milk were compared using the general descriptive analysis and the growth of probiotics (*Bifidobacteria bifidum* DSM 20456, *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034). There were no significant differences in all sensory attributes (color, thickness, beany flavor, sweetness, viscosity, sweetness aftertaste) among the samples ($p>0.05$). Various mixture of the prebiotics had only a slight effect on the soybean milk color and viscosity ($p<0.05$). The growth of probiotics results showed that GOS stimulated the highest growth in all probiotic strains, while I had the lowest effect on the probiotics growth ($p<0.05$). The optimized formulation (11%I, 62%GOS, 27%IMO) was determined by the highest growth of the probiotic bacteria. This prebiotic mixture stimulated the growth of *B. bifidum* DSM 20456 from 6.58 to 7.54 log CFU/ml (after 48 h), *L. plantarum* TISTR 875 from 6.59 to 8.65 log CFU/ml (after 24 h) and *L. acidophilus* TISTR 1034 from 6.83 to 8.44 log CFU/ml (after 24 h) and was not different when compare with glucose ($p>0.05$).

The soybean milk supplemented with the optimized prebiotic mixture had higher carbohydrates, total soluble solid, total solid content and viscosity than the control soybean milk (without prebiotics) ($p<0.05$). However, it had lower L^* value (lightness) and higher a^* value (redness) when compared with the control ($p<0.05$). Descriptive analysis results showed no

significant differences in color, thickness and beany flavor were found among samples ($p>0.05$). However, the prebiotic fortified sample had higher values in the sweetness, viscosity and sweetness aftertaste than the control ($p<0.05$). When the amount of sugar (5% w/v) in the prebiotic added sample formulation was reduced to 2.6 (w/v), no significant differences in all sensory attributes were observed in both beverages ($p>0.05$).

Quality changes of the prebiotic fortified soybean milk during storage at 1±1 ºC for 30 days were investigated. The visual suspension stability (separation index = 1.00) of the sample was not affected throughout 28 days of storage. However, the suspension stability was detected after 21 days (suspension stability index = 0.99). No differences in appearance and color liking scores were indicated by a 9-point hedonic scale throughout 30 days of storage ($p>0.05$). However, the beany flavor and overall liking scores decreased at day 25 and at day 30 the average overall liking score was 6.37. Total viable count of the sample during storage from day 1 to 30 was lower than 30 CFU/ml.

The consumer test of prebiotic fortified soybean milk for elderly consumers using 200 consumers at the age higher than 60 years old in Songkla province was carried out. A 9-point hedonic scale result showed that average acceptance scores of color, beany flavor, sweetness, viscosity and overall liking were 7.44, 7.41, 7.42, 7.46 and 7.38, respectively. Purchase intent scale (9 points) of product with a price of 12 baht per box (200 ml) demonstrated that 32% consumers were definitely would buy the product and the average score was 6.84. After they had been informed about the prebiotics health benefit which supplemented in the product, the average purchase intent score was increased to 7.94 and 55% consumers were definitely would buy the product.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ ประธานกรรมการที่ปรึกษา เป็นอย่างสูงที่กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำตลอดระยะเวลาที่ศึกษา การค้นคว้า การทำงานวิจัยและการเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ รวมทั้งการเสียสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำและตรวจทานแก้ไขรายงานฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพิชญา จันทะชุม และ รศ.ดร.ธงชัย สุวรรณสิชณ์ คณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตรและคณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ทุนการศึกษาและทุนอุดหนุนในการค้นคว้าวิจัย ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านต่างๆ ในการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ บริษัท เฮล์มมหาบุญ จำกัด ประเทศไทย ที่ให้ความอนุเคราะห์อินนูลิน และ Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและแนะนำในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ

ขอขอบคุณผู้ทดสอบและผู้บริโภคสูงอายุทุกท่านที่ให้ความร่วมมือในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเป็นอย่างดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่สนับสนุนการศึกษา พี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ คณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ตลอดจนทุกๆ ท่านที่มิได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ด้วย ที่มีส่วนช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ด้วยดี

ภัคธีมา สุขพันธ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ……..	(3)
ABSTRACT……	(5)
กิตติกรรมประกาศ……...	(7)
สารบัญ…….....	(8)
LIST OF TABLES……..…...	(9)
LIST OF FIGURES……..…..	(11)
LIST OF APPENDIX TABLE……...	(12)
บทที่	
1 บทนำ…….....	1
บทนำต้นเรื่อง……	1
การตรวจเอกสาร……	3
วัตถุประสงค์…….....	43
2 วิธีการวิจัย…….....	44
วัสดุและอุปกรณ์……	44
วิธีดำเนินการ…….....	48
3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง…….....	60
4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ…….....	108
เอกสารอ้างอิง……...	111
ภาคผนวก…….....	125
ก การวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ…….....	126
ข การวิเคราะห์ค่าทางเคมี…….....	128
ค การวิเคราะห์ค่าทางจุลินทรีย์…….....	136
ง การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส…….....	141
จ วิธีการและตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้ในการคัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบชิม….....	157
ประวัติผู้เขียน……...	163

LIST OF TABLES

Table		Page
1	Proximate composition (%) of soybeans and seed parts (dry weight basis)……...	7
2	FAO/WHO recommended amino acid scoring pattern compared with essential amino acid in soybean……...	7
3	Essential amino acid content of soybean milk compared with cow's milk (g amino acid/ 16 g nitrogen)……	13
4	Chemical composition and nutrition value of soybean milk…….	15
5	Composition of soybean milk, cow's milk and mother's milk……..	15
6	Composition (given in % by weight) of some candidate prebiotics available for human consumption……...	26
7	Microbial species from which strains find application in probiotic products……...	34
8	Estimated numbers (per ml or g of intestinal contents) and suggested role (postulated effects) of major microbial population groups in different segments of the gastrointestinal tract…….	37
9	Ingredients of mocked-up soybean milk……...	49
10	The augmented simplex-centroid design for prebiotic mixture…….	53
11	Chemical composition of soybean seed on a dry weight basis……..	61
12	Chemical and physical properties of mocked-up soybean milk (per 100 g)…….	62
13	The augmented simplex-centroid design for prebiotic mixture and physical properties of various prebiotics supplemented soybean milks……..	67
14	Descriptors developed for general descriptive analysis of soybean milk……..	69
15	Average scores of soybean milks supplemented with various prebiotic mixtures……	71
16	The effect of prebiotics on the growth of probiotic bacteria in the batch culture fermentations…….....	73
17	The predictive and regression models and goodness-of-fit obtained from the growth of probiotic bacteria……...	77

LIST OF TABLES (Cont.)

Table		Page
18	The optical density of probiotic bacteria cultured with three optimized prebiotics formulations and glucose……...	85
19	Growth of probiotic bacteria in the batch culture fermentation supplemented with the optimized prebiotics formulation…….	87
20	Chemical and physical properties of mocked-up and prebiotic supplemented soybean milk (per 100 g)……...	89
21	Average scores of mocked-up soybean milk, prebiotic supplemented soybean milk and prebiotic supplemented soybean milk with reduced sugar…….	91
22	Physical properties of prebiotic supplemented soybean milk and control soybean milk (no containing carrageenan)……..	92
23	Suspension stability of prebiotic supplemented soybean milk and control soybean milk (no containing carrageenan) at 1ºC for 28 days quiescent storage……	93
24	Liking scores of prebiotic supplemented soybean milk which stored at 1 ºC for 30 days…….....	96
25	Demographic and socioeconomic characteristics of elderly consumer for consumer test of prebiotic supplemented soybean milk……	98
26	Soybean milk buying and consuming behavior of elderly consumer……	101
27	The importance ranking score for buying reasons of soybean milk……..	104
28	Liking score of prebiotic supplemented soybean milk……..	105
29	Consumer purchase intent of the prebiotic supplemented soybean milk……..	107

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Skeletal structure of isoflavone isomers……	9
2	Administration of probiotics in different forms……	33
3	Purported mechanisms of action of probiotics……..	40
4	Flow diagram of soybean milk production……	50
5	The growth curves for *Bifidobacteria bifidum* DSM 20456 (A), *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 (B) and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 (C) in the batch culture fermentation supplemented with various prebiotic mixtures (1% w/v) and glucose as carbon sources……...	74
6	Contour plot for *Bifidobacteria bifidum* DSM 20456 (A), *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 (B) and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 (C) growth in the batch culture fermentation supplemented with different mixtures of inulin (I), galacto-oligosaccharides (GOS) and isomalto-oligosaccharides (IMO)……	78
7	Over lay plot of optimum region (light shade) that contains 0-0.26%I, 0.36-1%GOS and 0-0.54%IMO which set the limit of *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 and *L. acidophilus* TISTR 1034 growth at least log 0.26, 0.3 and 0.75, respectively…….....	84

LIST OF APPENDIX TABLES

Table		Page
C4	ANOVA for Mixture Quadratic Model ……	138
E1	The soybean milk samples for screening of assessors using Triangle Test……...	157
E4	The balance order and carry-over effects design for 13 treatments with 52 replicates in 2 balanced blocks of 26 consumers……...	161

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ปัจจุบันตลาดของอาหารเพื่อสุขภาพที่เสริมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกนั้นมีการเติบโตที่เพิ่มขึ้นอย่างมาก เนื่องจากผู้บริโภคมีความตระหนักเกี่ยวกับอาหารที่มีผลต่อสุขภาพร่างกายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งการเสริมสารพรีไบโอติกและ/หรือโพรไบโอติกลงไปในอาหารนั้นเพื่อเป็นประโยชน์กับสุขภาพของผู้บริโภค (host) ด้วยการส่งเสริมการเจริญเติบโตและกิจกรรมของโพรไบโอติก หรือจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ที่มีอยู่ในลำไส้ใหญ่ (Tuohy *et al.* 2003) โดยโพรไบโอติกสามารถลดจำนวนแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อร่างกายได้ ทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้มีความสมดุล มีความต้านทานต่อแบคทีเรียก่อโรคเพิ่มมากขึ้น ป้องกันและลดอาการท้องร่วงทั้งที่เกิดจากแบคทีเรียและไวรัส ทำให้มีระบบการขับถ่ายดี ไม่สะสมสารพิษไว้ตามผนังลำไส้ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด กระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันเพิ่มมากขึ้น ลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็ง เพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและเหล็ก และลดการแพ้แลคโตสในนมวัวซึ่งทำให้เกิดอาการท้องอืดและท้องเสียในผู้ที่ไม่สามารถย่อยแลคโตสได้ (Manning and Gibson, 2004; Holzapfel and Schillinger, 2002; Kaur *et al*., 2002) แต่อย่างไรก็ตามเมื่ออายุมากขึ้น ร่างกายอยู่ในภาวะเครียด หรือรับประทานยาปฏิชีวนะก็จะมีผลทำให้ประชากรของจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดน้อยลง ทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้เสียสมดุลและเกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารได้ง่าย (Rice, 2002) โดยผู้ใหญ่ที่มีอายุ 55-60 ปี จำนวนของ bifidobacteria ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในอุจจาระนั้นลดลงอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับวัยหนุ่มสาว การลดลงของ bifidobacteria นั้นทำให้ความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรคภายในลำไส้ลดน้อยลง ซึ่งการบริโภคพรีไบโอติกก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้สูงอายุที่จะทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้เกิดความสมดุลและต่อต้านเชื้อก่อโรคได้ (Manning and Gibson, 2004) ทั้งนี้ Manning และ Gibson (2004) ชี้ให้เห็นว่าหากรับประทานฟรุกโตโอลิโก-แซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides) อย่างน้อย 4 กรัมต่อวันก็จะเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria ในลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่ถ้าจะให้ผลที่ดีกว่าควรรับประทาน 8 กรัมต่อวัน

ผู้สูงอายุ (อายุ 60 ปีขึ้นไป) ในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี พ.ศ. 2551 มีผู้สูงอายุ 7.04 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 11.16 ของประชากรทั้งประเทศ (ประชากรทั้งประเทศ 63.12 ล้านคน) (สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล, 2551) และคาดว่าในปี

พ.ศ. 2553 มีผู้สูงอายุ 7.64 ล้านคน (ร้อยละ11.36 ของประชากรทั้งประเทศ) (วิทยาลัยประชากรศาสตร์, 2548) ด้วยเหตุผลของประโยชน์และความเป็นไปได้ทางการตลาดของสารพรีไบโอติกจึงได้มีความสนใจที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุขึ้น เพื่อส่งเสริมสุขภาพที่ดีแก่ผู้บริโภคกลุ่มนี้ พรีไบโอติกสามารถนำไปเติมในผลิตภัณฑ์อาหารได้หลากหลายมากกว่าโพรไบโอติก เพราะพรีไบโอติกนั้นมีข้อดีคือ ทนต่อความร้อน กรด ด่าง ไม่มีปัญหาเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนเหมือนอย่างโพรไบโอติก ซึ่งโพรไบโอติกจะมีปัญหาในการมีชีวิตรอด (Manning and Gibson, 2004) โดยอาหารที่น่าสนใจอย่างหนึ่งสำหรับผู้บริโภคสูงอายุก็คือ นมถั่วเหลือง เนื่องจากถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของไอโซฟลาโวน (isoflavones) ซึ่งมีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดมะเร็ง ลดภาวะไม่พึงประสงค์หลังหมดประจำเดือน ป้องกันโรคกระดูกพรุนและภาวะเส้นโลหิตแดงหนาและแข็งตัว (Prabhakaran *et al*., 2006) นอกจากนี้โปรตีนถั่วเหลืองยังลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันได้ นมถั่วเหลืองนับว่าเป็นหนึ่งในเครื่องดื่มที่มีแนวโน้มเติบโตอยู่ในเกณฑ์สูงอย่างต่อเนื่อง โดยปัจจัยหนุนสำคัญต่อการขยายตัวของตลาดนมถั่วเหลืองคือ กระแสความสนใจในเรื่องการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ และผลงานวิจัยที่ยืนยันถึงการบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองว่าสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้ โดยในปี 1999 องค์การอาหารและยาได้กล่าวอ้างว่า การบริโภคโปรตีนถั่วเหลือง 25 กรัมต่อวันร่วมกับการบริโภคอาหารที่มีปริมาณไขมันอิ่มตัวและคอเลสเตอรอลต่ำ จะลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (coronary heart disease: CHD) ได้ ด้วยการไปลดระดับคอเลสเตอรอลทั้งหมดในเลือด (total blood cholesterol) และแอลดีแอล คอเลสเตอรอล (low density lipoprotein, LDL-cholesterol) (Food and Drug Administration, 1999) ดังนั้นจึงทำให้ตลาดนมถั่วเหลืองทั่วโลกมีการขยายตัวอยู่ในเกณฑ์สูง นมถั่วเหลืองจัดเป็นนมประเภทหนึ่งในผลิตภัณฑ์นมทางเลือก (Dairy Alternative) ซึ่งไม่นับรวมนมแพะ โดยตลาดผลิตภัณฑ์นมทางเลือกนั้นนับว่าเป็นตลาดที่มีความสำคัญ คาดว่าในปี 2549-2553 อัตราการขยายตัวของตลาดนมทางเลือกยังจะเพิ่มขึ้นเฉลี่ยร้อยละ 16 ต่อปี สำหรับตลาดนมถั่วเหลืองของโลกนั้นมีสัดส่วนประมาณร้อยละ 85-90 ของมูลค่าตลาดผลิตภัณฑ์นมทางเลือกทั้งหมด ซึ่งตลาดนมถั่วเหลืองนับเป็นตลาดเครื่องดื่มที่น่าจับตามอง เนื่องจากมีการขยายตัวอยู่ในเกณฑ์สูงอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันสัดส่วนนมถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นเป็นประมาณร้อยละ 50 ของมูลค่าตลาดนมพร้อมดื่มทั้งหมด จากที่เคยมีสัดส่วนเพียงร้อยละ 14 ในปี 2541 (ห้องสมุดธนาคารไทยพาณิชย์, 2549) ตลาดนมถั่วเหลืองในประเทศไทยมีมูลค่าประมาณ 7,000 ล้านบาท แบ่งเป็น ยูเอชที 4,863 ล้านบาท สเตอริไลส์ 2,088 ล้านบาท และพาสเจอร์ไรส์ 25 ล้านบาท โดยที่ส่วนแบ่งตลาดนมถั่วเหลืองยูเอชทีเป็นของแลคตาซอย ร้อยละ 43 ไวตามิ้ลค์ ร้อยละ 35 ดีน่า ร้อยละ 17 และโฟร์โมสต์ ไฮ-ไฟว์ ร้อยละ 5 ส่วนแบ่งตลาดของนม

ถั่วเหลืองสเตอริไลส์เป็นของไวตามิ้ลค์ ร้อยละ 80 และของยี่ห้ออื่นๆ ร้อยละ 20 (วาตี ภู่โรจสวัสดิ์, 2550) จากคุณประโยชน์ของพรีไบโอติกและไอโซฟลาโวนในถั่วเหลือง รวมทั้งการมีแนวโน้มทางการตลาดที่ดี ดังนั้นจึงต้องการที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่มีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพและตรงตามความต้องการของผู้บริโภคสูงอายุ เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกให้แก่ผู้สูงอายุที่ต้องการมีสุขภาพร่างกายที่ดี

การตรวจเอกสาร

1. ถั่วเหลือง

ถั่วเหลือง มีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Glycine max* (L.) Merrill อยู่ในวงศ์ *Leguminosae* วงศ์ย่อย *Papilionoideae* เผ่า *Phaseoleae* สกุล *Glycine* Willd. สกุลย่อย *Soja* (Moench) (Canadian Food Inspection Agency, 1996) ถั่วเหลืองมีชื่อเรียกต่างกันไปตามแต่ละท้องถิ่น ได้แก่ ถั่วพระเหลือง, ถั่วแระ, ถั่วแม่ตาย, ถั่วเหลือง (ภาคกลาง), มะถั่วเน่า (ภาคเหนือ), อึ่งตั่วเต่า, เฮ็กตั่วเต่า (จีน - แต้จิ๋ว), โซยา บีน (อังกฤษ), โซยุ (ญี่ปุ่น) (สถาบันวิจัยพืชไร่, 2548) ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์มากมาย เช่น ใช้เป็นอาหารโดยบริโภคเป็นถั่วเหลืองฝักสดหรือบรรจุกระป๋อง และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทางด้านอาหาร ได้แก่ เต้าเจี้ยว เต้าหู้ เต้าหู้ผง เต้าฮวยผง ซีอิ้ว นมถั่วเหลือง แป้งถั่วเหลือง ขนมขบเคี้ยวโปรตีนสูง ใช้ในทางอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันได้เป็นน้ำมันถั่วเหลือง ส่วนกากถั่วเหลืองที่ผ่านการสกัดน้ำมันแล้วก็นำไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์ ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์โดยการนำเมล็ดถั่วเหลืองแปรรูปเป็นถั่วเหลืองนึ่ง (full fat soy) ใช้ผสมอาหารสัตว์ และนอกจากนี้ยังใช้สำหรับทำปุ๋ยหรือบำรุงดิน เนื่องจากที่รากของถั่วเหลืองจะมีปมซึ่งมีเชื้อแบคทีเรียไรโซเบียมที่สามารถดูดไนโตรเจนให้มาอยู่ในรูปของสารประกอบซึ่งพืชสามารถใช้เป็นปุ๋ยได้ (สมาคมส่งเสริมผู้ใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์, 2548 ก) ในประเทศไทยพันธุ์ถั่วเหลืองที่เกษตรกรนิยมปลูก จะเป็นพันธุ์ที่ผ่านการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตรเรียบร้อยแล้ว ปัจจุบันมีจำนวน 7 พันธุ์ คือ พันธุ์ สจ.1 (SJ.1) พันธุ์ สจ.2 (SJ.2) พันธุ์ สจ.4 (S.J.4) พันธุ์ สจ.5 (SJ.5) พันธุ์นครสวรรค์ 4 (นว.4 : NS.4) พันธุ์เชียงใหม่ 60 (ชม.60 : CM.60) และพันธุ์สุโขทัย 1 (สท.1 : ST.1) (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2552)

1.1 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่ให้คุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งปัจจุบันอาหารและเครื่องดื่มที่ใช้ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบก็สามารถเลือกซื้อเลือกหาได้ง่าย เป็นแหล่งโปรตีนที่เหมาะกับทุกคนในครอบครัว ผู้ที่กำลังเจริญเติบโต ผู้ที่รักษาสุขภาพ ผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก ลดระดับคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดอุดตัน อาการภูมิแพ้ ป้องกันโรคมะเร็ง การควบคุมเบาหวาน ป้องกันภาวะกระดูกเสื่อมและหากรับประทานเป็นประจำจะช่วยให้ไตทำงานน้อยลง และกรองของเสียได้ง่ายขึ้น (Kennedy, 1995) เพราะฉะนั้นเพื่อเป็นการเสริมสร้างสุขภาพของร่างกาย การบริโภคถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองจึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่ง

ถั่วเหลืองนั้นราคาถูก เป็นแหล่งของโปรตีนและไขมันที่มีคุณภาพ (Poysa and Woodrow, 2002) ปริมาณของสารอาหารในเมล็ดถั่วเหลืองโดยประมาณดังแสดงใน Table 1 โปรตีนถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับสุขภาพคนเราถึง 8 ชนิด (Table 2) มีคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับโปรตีนจากสัตว์ แต่ยังไม่เท่าเทียมกับโปรตีนจากนม ไข่ หรือเนื้อสัตว์ ทั้งนี้เพราะถั่วเหลืองและถั่วอื่นๆ ทั่วไปมีปริมาณ กรดอะมิโนบางชนิดค่อนข้างต่ำ (Kennedy, 1995) คือ กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (S-containing amino acids) ซึ่งได้แก่ เมทไทโอนิน (methionine) และซิสทิน (cystine) (Saidu, 2005) ดังนั้นผู้บริโภคจึงควรบริโภคจึงควรบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองร่วมกับโปรตีนจากแหล่งอื่นๆ เช่น ข้าว งา เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฟักทอง มะพร้าว รวมทั้งธัญพืชอื่น ๆ ที่เป็นแหล่งของกรดอะมิโนประเภทนี้ควบคู่ไปด้วย ซึ่งเป็นวิธีการบริโภคของชาวมังสวิรัติโดยทั่วไป เพราะจะช่วยเสริมให้ได้ร่างกายได้รับกรดอะมิโนครบถ้วนสมบูรณ์ ทำให้ได้อาหารที่มีคุณภาพของโปรตีนดีเท่าเทียมกับโปรตีนที่ได้มาจากเนื้อสัตว์ (U.S. Department of Agriculture, 2005)

เมล็ดถั่วเหลืองมีปริมาณของโปรตีนร้อยละ 38-40 ไขมันร้อยละ 18-24 (Penalvo *et al*., 2004) คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30 (United Soybean Board, 2001) เถ้าร้อยละ 4.29-5.34 ความชื้นร้อยละ 7.55-8.73 เยื่อใยร้อยละ 5.91-7.89 (Padgette, 1996) โดยสัดส่วนไขมันในถั่วเหลืองเป็นไลปิดร้อยละ 90 ฟอสโฟไลปิด ร้อยละ 7 และไกลโคไลปิด ร้อยละ 3 โดยที่ร้อยละ 80 ของกรดไขมันเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ประมาณครึ่งหนึ่งของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในถั่วเหลืองเป็นกรดลิโนเลอิก (linoleic) (C18:2 n-6) และกรดลิโนเลนิก (linolenic) (C18:3 n-3) (omega-3 fatty acids) กรดโอเลอิก (oleic) ร้อยละ 23 และกรดปาล์มมิติก (palmitic) ร้อยละ 16 กรดไขมันในถั่วเหลืองและอนุพันธ์ส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวด้วยเหตุนี้จึงทำให้เกิดการออกซิเดชั่นได้ง่าย (Penalvo *et al*., 2004) กรดไขมันลิโนเลอิกและกรดลิโนเลนิกเป็นกรดไขมันจำเป็นร่างกายไม่สามารถผลิตเอง

ได้ต้องได้จากอาหาร กรดไขมันทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นสารตั้งต้นของฮอร์โมนที่ควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อเรียบ ความดัน โลหิตและการเจริญเติบโตของเซลล์ปกติ (สุวลี โล่วิรกรณ์, 2548) โดยกรดลิโนเลอิกมีหน้าที่สำคัญคือให้ความสมบูรณ์แก่ผิวหนัง ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด และยังมีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของทารกและเด็กด้วย (อรุณี สมมณี, 2548)

หากแยกตามสัมประสิทธิ์การตกตะกอน (sedimentation coefficients) โปรตีนถั่วเหลืองสามารถแยกออกได้เป็น 4 ส่วนด้วยกัน ได้แก่ 2, 7, 11,และ 15 S ประมาณร้อยละ 90 ของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในถั่วเหลืองเป็นกลอบูลิน (globulins) และมากกว่าร้อยละ 70 ของกลอบูลิน คือ ไกลซินิน (11 เอส กลอบูลิน) (glycinin (11S globulin)) และเบต้า-คอนไกลซินิน (7 เอส กลอบูลิน) (β-conglycinin (7S globulin)) ไกลซินินเป็นแหล่งของกรดอะมิโนเมทไทโอนีน (methionine) และซิสเทอีน (cysteine) (ร้อยละ 3-4.5) ซึ่งจะเก็บสะสมอยู่ในใบเลี้ยงของเมล็ด (Kaviani and Kharabian, 2007) โดยส่วนของ 2 S มีประมาณร้อยละ 20 ของโปรตีนเมล็ดถั่ว ในส่วนของ 7 S มีโปรตีนเบต้า-คอนไกลซินินและไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ซึ่งมีประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ในส่วนของ 11 S มีประมาณ 1 ใน 3 ส่วนของโปรตีนถั่วเหลืองทั้งหมดและมีโปรตีนเพียงตัวเดียวเท่านั้น คือ ไกลซินิน (Nielsen, 1985; Yagasaki *et al*., 1997 อ้างโดย Saidu, 2005) และในส่วนของ 15 S นั้นมีเพียง 1 ใน 10 ส่วนของโปรตีนทั้งหมด (Hou and Chang, 1998) โปรตีนถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นกลอบูลินซึ่งจะละลายได้ที่จุดไอโซอิเลคทริค (isoelectric) แต่การละลายก็ขึ้นอยู่กับการเติมเกลือ จุดไอโซอิเลคทริคนั้นอยู่ในช่วงพีเอช 4.2-4.6 การให้ความร้อนนั้นจำเป็นต่อการได้รับคุณค่าทางอาหารสูงสุดและการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนถั่วเหลือง โปรตีนถั่วเหลืองสูญเสียสภาพธรรมชาติได้ด้วยความร้อน พีเอชที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป ตัวทำละลายอินทรีย์ และสารลดแรงตึงผิว (detergents) (Smith and Circle, 1978 อ้างโดย Saidu, 2005) โปรตีนถั่วเหลืองนับว่ามีคุณประโยชน์ทางอาหารอย่างมาก จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการบริโภคโปรตีนถั่วเหลืองกับปริมาณไขมันในเลือด (serum lipid) ซึ่งได้ทดลองกับคนไข้จำนวน 38 คน โดยให้บริโภคโปรตีนถั่วเหลือง 47 กรัมต่อวัน พบว่าสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) (ร้อยละ 9.3) แอลดีแอล คอเลสเตอรอล (ร้อยละ 12.9) และไตรกลีเซอไรด์ (ร้อยละ 10.5) (Anderson *et al*., 1995) ซึ่งสอดคล้องกับที่องค์การอาหารและยาได้กล่าวอ้างว่า การบริโภคโปรตีนถั่วเหลือง 25 กรัมต่อวันจะลดระดับคอเลสเตอรอลในร่างกายได้ร่วมกับการบริโภคอาหารที่มีปริมาณไขมันอิ่มตัวและคอเลสเตอรอลต่ำ (Food and Drug Administration, 1999)

เมล็ดถั่วเหลืองมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 30 โดยเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำร้อยละ 15 และคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 15 (United Soybean Board, 2001)

คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เพกติน (pectin) เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และสตาร์ช (starch) คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ได้แก่ โมโนแซคคาร์ไรด์ (monosaccharides) ไดแซคคาร์ไรด์ (disaccharides) และโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharides) (Liu, 1997 อ้างโดย Brown, 2006) สำหรับคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ประกอบด้วยซูโครส (sucrose) ร้อยละ 4-5 ราฟฟิโนส (raffinose) ร้อยละ 1-2 และสตาคีโอส (stachyose) ร้อยละ 3.5-4.5 (Wilson, 1995 อ้างโดย Brown, 2006) ซูโครสเป็นน้ำตาลกลุ่มไดแซคคาร์ไรด์ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตส ถูกย่อยได้ง่ายและเป็นตัวให้ความหวานในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง ราฟฟิโนสและสตาคิโอสเป็นน้ำตาลกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ราฟฟิโนสเป็นไตรแซคคาร์ไรด์ (trisaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโตส ฟรุกโตส และกลูโคส ส่วนสตาคิโอสเป็นเตตระแซคคาร์ไรด์ (tetrasaccharide) ประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโตส 2 โมเลกุล ฟรุกโตส และกลูโคส สำหรับราฟฟิโนสและสตาคิโอส กาแลคโตสจะถูกเอาออกจากฟรุกโตสและกลูโคสได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟา-กาแลคโตซิเดส (Messina, 1999)

องค์ประกอบอื่นๆ ในถั่วเหลือง ได้แก่ ไอโซฟลาโวน (isoflavone) เกลือแร่ (เหล็ก แคลเซียม สังกะสี) วิตามิน (อัลฟา-โทโคฟีรอล (α-tocopherol) ไนอาซิน (niacin) ไพริดอกซิน (pyridoxine) และโฟลาซิน (folacin)) แอนตี้นิวเตรียนท์ (anti-nutrient) ซาโปนิน (saponins) ฟอสโฟไลปิด (phospholipids) สารยับยั้งโปรติเอส (protease inhibitors) ไฟเตต (phytates) และสารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitors) (Liu, 1997 อ้างโดย Saidu, 2005) องค์ประกอบของเมล็ดถั่วเหลืองนั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์ พื้นที่เพาะปลูกและปีที่เพาะปลูก (Poysa and Woodrow, 2002) ถั่วเหลืองแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณโปรตีนและไขมัน กลิ่นรส สีของจมูกถั่วเหลือง สีของเปลือกถั่วเหลือง สีของเมล็ด และขนาดของเมล็ดแตกต่างกัน (Min *et al*., 2005) เมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยใบเลี้ยง (cotyledons) ร้อยละ 95 เปลือกถั่ว (hull) และต้นอ่อน (hypocotyl) ร้อยละ 3 และ 2 ตามลำดับ ต้นอ่อนของเมล็ดถั่วเหลืองนั้นอุดมไปด้วยไขมัน โปรตีน เถ้า และวิตามิน และเป็นแหล่งของไอโซฟลาโวนที่สำคัญ ซึ่งมีปริมาณไอโซฟลาโวนมากกว่าในใบเลี้ยงถั่วเหลือง 5-6 เท่า ต้นอ่อนของถั่วเหลืองมีปริมาณไอโซฟลาโวนอยู่ในช่วงระหว่าง 20-30 มิลลิกรัมต่อกรัม หรือประมาณร้อยละ 80-90 ของเมล็ดถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังมีอัตราส่วนของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acid) มากที่สุดด้วย (Liu, 1997 อ้างโดย Saidu, 2005)

Table 1. Proximate composition (%) of soybeans and seed parts (dry weight basis)

Soybean Parts	Whole Portions (%)	Protein (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)	Ash (%)
Whole beans	-	40	21	34	4.9
Cotyledon	90	43	23	29	5.0
Hull	3 to 8	9	1	86	4.3
Hypocotyl	2	41	11	43	4.4

Source: Wolf and Cowman (1971 cited by Saidu, 2005)

Table 2. FAO/WHO recommended amino acid scoring pattern compared with essential amino acid in soybean

Amino acid	FAO/WHO mg/g crude protein	Soybean mg/g crude protein
Isoleucine	40	37
Leucine	70	74
Lysine	55	59
Methionine+Cystine	35	22
Phenylalanine+Tyrosine	60	64
Threonine	40	42
Tryptophan	10	15
Valine	50	50

Source: กองโภชนาการ กรมอนามัย (2549)

1.2 สารสำคัญในถั่วเหลือง

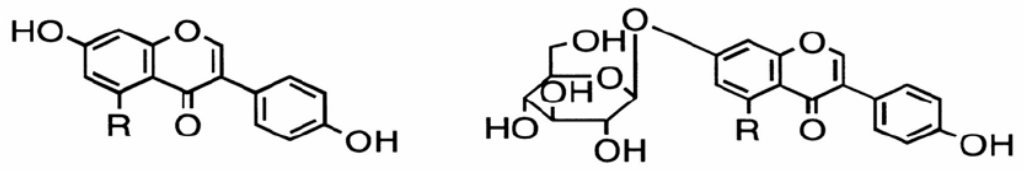
ในปี ค.ศ. 1990 National Cancer Institute ได้จำแนกสารสำคัญในถั่วเหลืองแบ่งออกเป็น 5 ชนิด ได้แก่ ไอโซฟลาโวน สารยับยั้งทริปซิน ไฟโตสเตอรอล กรดไฟติก และซาโปนิน (Messina *et al*., 1994)

1. ไอโซฟลาโวนเป็นไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) ซึ่งมีอยู่ในพืช จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยส์ (flavonoids) ไอโซฟลาโวนเป็นสารประกอบฟีโนลิก (phenolic compounds) ที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจนที่ร่างกายผลิตขึ้น ดังนั้นสาร

ไฟโตเอสโตรเจนจึงทำหน้าที่ทดแทนฮอร์โมนเอสโตรเจนให้แก่ร่างกายได้ (Tsangalis *et al*., 2002) สารกลุ่มนี้ถูกจัดเป็นแอนตินิวเทรียนท์สามารถแสดงคุณสมบัติเอสโทรจีนิค (estrogenic) และแอนติเอสโทรจีนิค (antiestrogenic) ได้ สำหรับไอโซฟลาโวนหลักที่พบในถั่วเหลืองมี 3 ชนิด คือ genistein (4′ 5, 7-trihydroxyisoflavone) daidzein (4′, 7-dihydroxyisoflavone) ซึ่งเป็นไอโซ-ฟลาโวนที่สำคัญมาก ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองจะมีปริมาณ genistein มากกว่า daidzein และไอโซฟลาโวนชนิดที่สามซึ่งมีอยู่น้อยในถั่วเหลือง คือ glycitein (7, 4′-dihydroxy-6-methoxyisoflavone) (Kudou *et al*., 1991) ไอโซฟลาโวนมีรูปแบบทางเคมี 4 รูปแบบด้วยกัน ซึ่งในแต่ละรูปแบบประกอบไปด้วย 3 ไอโซเมอร์ ทำให้มีไอโซฟลาโวนทั้งหมด 12 ชนิด (Figure 1) ไอโซฟลาโวนทั้ง 4 รูปแบบ คือ aglycones ประกอบด้วย daidzein, genistein และ glycitein glucosides ประกอบด้วย daidzin, genistin และ glycitin acetylglucosides (6OAceGlc) ประกอบด้วย 6”-O-acetyldaidzin, 6”-O-acetylgenistin และ 6”-O-acetylglycitin และ malonylglucosides (6OMalGlc) ประกอบด้วย 6”-O-malonyldaidzin, 6”-O-malonylgenistin และ 6”-Omalonylglycitin (Kodou *et al*., 1991; Xu *et al*., 2002)

โดยสารที่มีปริมาณสูงและออกฤทธิ์ในการใช้ประโยชน์หลายอย่าง คือ genistein และ daidzein โดยส่วนใหญ่แล้วไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองจะอยู่ในรูปบีต้ากลูโคไซด์ (β-glucoside conjugates) (Kudou *et al*., 1991) ไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมักมักอยู่ในรูปของ aglycones หรือ conjugated forms ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก เช่น เต้าเจี้ยว มักอยู่ในรูปของ aglycones ทั้งนี้พบว่ากระบวนการหมักและการให้ความร้อนสามารถเพิ่มปริมาณ isoflavone aglycones ได้ (Anderson and Wolf, 1995) เมล็ดถั่วเหลืองมีไอโซฟลาโวนประมาณ 1.0 มิลลิกรัมต่อกรัม หรืออยู่ในช่วง 0.4-2.4 มิลลิกรัมต่อกรัม (Messina and Loprinzi, 2001) ปริมาณไอโซฟลาโวนในเมล็ดถั่วเหลืองมีรายงานแตกต่างกันไปอยู่ในช่วง 1.2-3.1 มิลลิกรัมต่อกรัม (Eldridge and Kwolek, 1983 อ้างโดย MacDonald *et al*., 2005) 1.2-3.3 มิลลิกรัมต่อกรัม (Wang and Murphy, 1994 อ้างโดย MacDonald *et al*., 2005) 1.2-2.5 มิลลิกรัมต่อกรัม (Hoeck *et al*., 2000 อ้างโดย MacDonald *et al*., 2005) และ 69.97-258.16 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Kim *et al*., 2004) ปริมาณไอโซฟลาโวนในต้นอ่อน (hypocotyls) และ ใบเลี้ยง (cotyledon) ของถั่วเหลืองมีแตกต่างกันซึ่งปริมาณสารประกอบไอโซฟลาโวนในต้นอ่อนจะมีมากกว่าในใบเลี้ยง ปริมาณไอโซฟลาโวน (โดยน้ำหนัก) มีมากที่สุดในต้นอ่อน (1,400-1,700 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และมีน้อยที่สุดในเปลือกของเมล็ดถั่วเหลือง (10-20 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ส่วนในใบเลี้ยงนั้นมีอยู่เพียงเล็กน้อย (150-320 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) (Wang and Murphy, 1994 อ้างโดย Saidu, 2005)

ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองแบบดั้งเดิม (เต้าหู้, miso, natto) มีไอโซฟลาโวนประมาณ 0.2-0.4 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักผลิตภัณฑ์สด และ 2-4 มิลลิกรัมต่อกรัมของโปรตีน ส่วนโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (soy protein isolate) นั้นมีไอโซฟลาโวนเฉลี่ย 1.0 มิลลิกรัมต่อกรัม หรืออยู่ในช่วง 0.5-2.0 มิลลิกรัมต่อกรัม (Messina and Loprinzi, 2001) ปัจจุบันไอโซฟลาโวนจัดเป็นสารที่ได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากสามารถแสดงศักยภาพในการป้องกันและรักษาโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคกระดูกพรุน ภาวะไม่พึงประสงค์หลังหมดประจำเดือน และลดการเกิดภาวะเส้นเลือดแดงหนาและแข็งตัวได้ (Prabhakaran *et al*., 2006) ปัจจุบันยังไม่มีมาตรฐานปริมาณการบริโภค (dietary reference intakes: DRI) ที่ควรบริโภคสำหรับไอโซฟลาโวน แต่อย่างไรก็ตามจากการวิจัยของนักวิจัยได้แนะนำว่าควรบริโภคไอโซฟลาโวน 20-50 มิลลิกรัมต่อวัน (Setchell and Cassidy, 1999)



R = OH: Genistein and R=H: Daidzein
Aglycones (IFA)

R=OH: Genistin and R=H: Daidzin
Glucosides (IFG)

R_1	R_2	Aglycone
H	H	Daidzein
OH	H	Genistein
H	OCH_3	Glycitein

R_3	R_4	R_5	Glucosides
H	H	H	Daidzin
OH	H	H	Genistin
H	OCH_3	H	Glycitin
H	H	$COCH_3$	6'-O-Acetyldaidzin
OH	H	$COCH_3$	6'-O-Acetylgenistin
H	OCH_3	$COCH_3$	6'-O-Acetylglycitin
H	H	$COCH_3COOH$	6'-O-Malonyldaidzin
OH	H	$COCH_3COOH$	6'-O-Manolygenistin
H	OCH_3	$COCH_3COOH$	6'-O-Malonylglycitin

Figure 1. Skeletal structure of isoflavone isomers

Source: Izumi *et al*. (2000); Wang and Murphy (1994 cited by Saidu, 2005)

2. สารยับยั้งทริปซินที่พบในถั่วเหลือง ได้แก่ คูนิทซ์อินฮิบิเตอร์ (Kunitz inhibitor) และโบวแมนเบิร์ค (BowmanBirk inhibitor; BBI) สารนี้ส่งผลต่อการย่อยโปรตีนเป็นเหตุให้ตับอ่อนทำงานเพิ่มขึ้นและส่งผลทางเคมีทำให้เกิดเนื้องอกในตับอ่อนได้ (Messina, 1999) โดยปกติแล้วสารชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตในสัตว์ทดลอง และทำให้ตับอ่อนโตอย่างผิดปกติ (pancreatic hypertrophy) เนื่องจากสารยับยั้งทริปซินไปจับกับเอนไซม์ทริปซินที่ลำไส้เล็ก กระตุ้นให้หลั่งสาร cholecystokinin (CCK) เพิ่มขึ้น ซึ่งสารนี้จะกระตุ้นย้อนกลับให้ตับอ่อนหลั่งเอนไซม์ทริปซิโนเจนออกมาทำให้ตับอ่อนเกิดการโตอย่างผิดปกติได้ (Green and Lyman, 1972 อ้างโดยอรุณี สมมณี, 2548) เนื่องจากสารยับยั้งทริปซินเป็นสารที่ไม่ทนความร้อน ดังนั้นประมาณร้อยละ 80 ของกิจกรรมการทำงานของสารนี้จึงถูกทำลายระหว่างกระบวนการผลิต (Anderson and Wolf, 1995) ในแง่ของการต้านการเกิดมะเร็งพบว่า BBI จัดเป็นสารที่ศึกษากันมากแม้ว่าผลการศึกษาโดยเฉพาะผลการต้านการเกิดมะเร็งของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการผลิตจะยังไม่ชัดเจนนัก (Kennedy, 1995)

3. ไฟโตสเตอรอลเป็นสารที่มีลักษณะคล้ายคลอเลสเตอรอลแต่มีคุณสมบัติแตกต่างจากคอเลสเตอรอลในเนื้อสัตว์เพราะไฟโตสเตอรอลในถั่วเหลืองจะช่วยในการสกัดกั้นการก่อตัวของคอเลสเตอรอลที่ได้จากเนื้อสัตว์ (สุวลี โล่วิรกรณ์, 2548) สารชนิดนี้สามารถพบได้ในพืชน้ำมันและถั่วชนิดต่างๆ อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตน้ำมันบางขั้นตอน เช่น การทำน้ำมันให้บริสุทธิ์ และการเติมแต่งกลิ่นอาจทำให้เกิดการสูญเสียไฟโตสเตอรอลได้ สารไฟโตสเตอรอลที่พบทั่วไป ได้แก่ β-sito-sterol, campesterol และ stigmasterol (Messina and Barnes, 1991) ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถสังเคราะห์สารชนิดนี้ได้ ดังนั้นจึงได้รับสารชนิดนี้จากการบริโภคอาหารเท่านั้น อย่างไรก็ตามพบว่าร่างกายสามารถดูดซึมสารไฟโตสเตอรอลได้ค่อนข้างจำกัด (Award *et al*., 2000) การศึกษาส่วนใหญ่เกี่ยวกับสารไฟโตสเตอรอลจะเกี่ยวข้องกับความสามารถในการยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลรวมทั้งคุณสมบัติด้านแอนตี้เอทเทอโรจีนิค (anti-atherogenic) และความผิดปกติเกี่ยวกับ Cutaneous xanthomasis มะเร็งลำไส้ใหญ่และการเติบโตของต่อมลูกหมากอย่างผิดปกติ (Prostate Hyperplasie) (Salen *et al*., 1970)

4. กรดไฟติกเป็นสารที่ลดการดูดซึมของเกลือแร่โดยการเกาะติดกับเกลือแร่ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม โดยเฉพาะสังกะสีในลำไส้ ถึงแม้ว่ากรดไฟติกจะลดการดูดซึมของเกลือแร่ แต่จากการศึกษาของ Messana and Barnes (1991) พบว่ากรดไฟติกสามารถแสดงคุณสมบัติต้านการเกิดมะเร็งได้ เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่และมะร็งเต้านมได้อีกด้วย (Messina, 1999) ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีปริมาณกรดไฟติกสูง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองดั้งเดิมที่ไม่ผ่านการหมัก เช่น นมถั่วเหลืองและ

เต้าหู้ มีปริมาณกรดไฟติกอยู่ในช่วงร้อยละ 1.5-3 ซึ่งเทียบเท่ากับปริมาณในเมล็ดถั่วเหลือง แสดงให้เห็นว่าสารชนิดนี้ทนต่อความร้อนและไม่ถูกทำลายระหว่างขั้นตอนเทกเจอไรซ์เซชั่น (texturization) ของกระบวนการเอ็กทรูชั่น (extrusion) (Davies and Reid, 1979 อ้างโดย อรุณี สมมณี, 2548) ในกรณีของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก เช่น เทมเป้ และ Okara จะมีปริมาณสารชนิดนี้ต่ำกว่า คือ ร้อยละ 0.5-1.2 (Anderson and Wolf, 1995) ทั้งนี้คาดว่า *Rhizopus oligosporus* ซึ่งเป็นเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมักจะปล่อยเอนไซม์ไฟเตสออกมา ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Sudarmadji and Markakis, 1977 อ้างโดย อรุณี สมมณี, 2548)

5. ซาโปนินมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วย triterpenoidal หรือ steroidal aglycones ซาโปนินในถั่วเหลืองจำแนกตามโครงสร้างได้เป็น 3 ชนิด คือ A, B และ E เนื่องจากซาโปนินนั้นมีทั้งส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ซาโปนินจึงเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) และสารที่ทำให้เกิดโฟม (foaming agents) ที่ดีจึงมีสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหาร ซาโปนินช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และช่วยป้องกันมะเร็งบางชนิด (MacDonald *et al*., 2005) ปริมาณซาโปนินของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองดั้งเดิม เช่น นมถั่วเหลือง ฟองเต้าหู้ และเต้าหู้ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.2-0.4 ซึ่งเท่ากับปริมาณในเมล็ดถั่วเหลืองเอง ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองแบบตะวันตกชนิดต่างๆ พบว่ามีปริมาณซาโปนินอยู่ประมาณร้อยละ 0.5-0.8 แสดงให้เห็นว่าซาโปนินทนต่อความร้อนและไม่ถูกทำลายระหว่างขั้นตอนการผลิต ขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนหมัก เช่น Okara และ Miso ซาโปนินจะถูกทำลายในระหว่างการหมัก (Anderson and Wolf, 1995)

นอกจากนี้ในถั่วเหลืองยังมีเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenases) เอนไซม์ชนิดนี้มีผลต่อกลิ่นรสถั่วของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง (Carro-Panizzi and Mandarino, 1994 อ้างโดย Saidu, 2005) โดยเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสเป็นตัวเร่งการเกิดออกซิเดชั่นของไขมัน ได้เป็นกรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (fatty acid hydroperoxides) และจากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์นี้เป็นผลให้เกิดกลิ่นและกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ (off-flavors) (Orthoefer, 1978 อ้างโดย Saidu, 2005) แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสนั้นสามารถยับยั้งได้ง่ายด้วยการต้ม 3-5 นาที ซึ่งการลวกก็เป็นกระบวนการป้องกันการเกิดกลิ่นรสถั่วได้ การลวกด้วยน้ำร้อนที่มีโซเดียมไบคาร์บอเนตก่อนการบดจะสามารถลดการเกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ได้ (Golbitz, 1995 อ้างโดย Saidu, 2005)

2. นมถั่วเหลือง

นมถั่วเหลือง หรือน้ำเต้าหู้เป็นเครื่องดื่มที่ได้จากการสกัดโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยใช้น้ำ การผลิตและบริโภคนมถั่วเหลืองเริ่มจากประเทศจีนและแพร่หลายไปยังประเทศญี่ปุ่นและประเทศในแถบตะวันออกเฉียงใต้ นมถั่วเหลืองเป็นเครื่องดื่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งของโปรตีนจากถั่วเหลือง และมีราคาถูก สามารถเป็นเครื่องดื่มเสริมอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภค (Reddy and Mital, 1992) โดยปกตินมถั่วเหลืองจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.5-3.0 โดยมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นใกล้เคียงกับนมวัว ยกเว้นเมทไทโอนีน (methionine) ที่มีอยู่น้อย (Table 3) นมถั่วเหลืองได้รับความนิยมใกล้เคียงกับนมวัว เป็นแหล่งของอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย ไม่มีแลคโตสและคอเลสเตอรอล และมีสตาร์ชอยู่น้อย (Iwuoha and Umunnakwe, 1997) ถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วต่อน้ำ เท่ากับ 1:8 โดยน้ำหนัก จะได้โปรตีนใกล้เคียงกับนมวัวคือดื่มนมถั่วเหลือง 1 แก้ว (200-250 มิลลิลิตร) จะได้โปรตีนประมาณ 6 กรัม (นมวัว 1 แก้ว จะได้โปรตีน ประมาณ 7 กรัม) (สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล, 2547) de Man *et al*. (1987) รายงานว่านมถั่วเหลืองประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 94 โปรตีนร้อยละ 3.0 ไขมันร้อยละ 1.5 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 1.5 และเถ้า (Min and Martin, 2005) Iwuoha และ Umunnakwe (1997) ชี้ให้เห็นว่าวิธีการผลิต อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเก็บรักษาจะมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ และประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลือง ในขณะที่ Poysa และ Woodrow (2002) พบว่าพันธุ์ถั่วเหลืองและปีที่เพาะปลูกนั้นมีผลอย่างมากต่อผลผลิตนมถั่วเหลือง ปริมาณของแข็งและพีเอช ซึ่งพื้นที่เพาะปลูกนั้นมีผลน้อยกว่ามาก

Table 3. Essential amino acid content of soybean milk compared with cow's milk (g amino acid/ 16 g nitrogen)

Essential amino acid	Soybean milk	Cow's milk
Isoleucine	5.1	7.5
Leucine	8.3	11.0
Lysine	6.3	8.7
Methionine	1.4	3.2
Cystine	1.7	1.0
Total sulfur amino acid	3.1	4.2
Phenylalanine	-	-
Tyrosine	-	-
Total aromatic amino acid	9.0	11.5
Threonine	3.8	4.7
Tryptophan	1.3	1.5
Valine	4.9	7.0
Protein quality		
Biological Value (% BV)	80	87
Digestibility (%)	95	91
Net Protein Utilisation (% NPU)	76	79

Source: Smith (1972 cited by Chaiwanon, 1999)

เมื่อเปรียบเทียบกับนมวัวแล้ว นมถั่วเหลืองมีไขมันน้อยกว่านมวัวประมาณ 2 เท่า มีปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวน้อยกว่านมวัวเกือบ 5 เท่า ไม่มีคอเลสเตอรอล (Table 4) นอกจากนี้นมถั่วเหลืองไม่มีน้ำตาลแลคโตสจึงเหมาะกับผู้ที่มีปัญหาแพ้น้ำตาลแลคโตสในนมวัว (lactose intolerance) และสำหรับผู้ที่บริโภคอาหารมังสวิรัติหรือผู้ที่หลีกเลี่ยงการบริโภคเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ นมถั่วเหลืองมีปริมาณวิตามินและเกลือแร่ใกล้เคียงกับนมวัวและนมแม่ ดังแสดงใน Table 5 แต่อย่างไรก็ตามนมวัวมีปริมาณของวิตามินบี 2 และแคลเซียมสูงกว่านมถั่วเหลืองมาก นมถั่วเหลืองมีวิตามิน บี 2 ประมาณ 1 ใน 20 ของนมวัวและมีปริมาณแคลเซียมเพียง 1 ใน 6 ของนมวัวเท่านั้น (นมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยอัตราส่วนถั่วเหลือง 1 ส่วน ต่อน้ำ 8 ส่วน จะมีปริมาณแคลเซียม 20-30 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) (Chaiwanon, 1999) ทั้งนี้ปริมาณวิตามินบี 2 และแคลเซียม

ในนมถั่วเหลืองมักจะน้อยกว่าในถั่วเหลืองทั้งเมล็ดเนื่องจากถูกสกัดออกมาอย่างจำกัด ดังนั้นเพื่อเป็นการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการของนมถั่วเหลืองให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่ครบถ้วนสมบูรณ์จึงได้มีการเสริมสารอาหารต่างๆ ลงไป เช่น วิตามินบี 2 แคลเซียม เมทไทโอนีน (จากธัญพืชอื่นๆ เช่น งา เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฟักทอง) Chaiwanon (1999) ศึกษาการเสริมแคลเซียมในนมถั่วเหลือง (เสริมแคลเซียม 100 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรของนมถั่วเหลือง) ให้มีระดับแคลเซียมต่อ 1 หน่วยบริโภค (200 มิลลิลิตร) ใกล้เคียงกับปริมาณแคลเซียมที่มีในนมวัว โดยได้เลือกใช้เกลือแคลเซียม 3 ชนิด ได้แก่ แคลเซียมคาร์บอเนต ไตรแคลเซียมฟอสเฟต และแคลเซียมแลคโตกลูโคเนต ผลการศึกษาพบว่า นมถั่วเหลืองที่เสริมไตรแคลเซียมคาร์บอเนตร่วมกับการเติมโพแทสเซียมซิเตรทและคาราจีแนน ในระดับ 300 มิลลิกรัม และ 30 มิลลิกรัม ตามลำดับ มีค่าการการนำแคลเซียมไปใช้ร้อยละ 19 เมื่อเทียบกับแคลเซียมในนมวัวซึ่งมีค่าการนำแคลเซียมไปใช้ร้อยละ 18 นมถั่วเหลืองเสริมไตรแคลเซียมฟอสเฟต ร่วมกับการเติมโพแทสเซียมซิเตรทและคาราจีแนน ในระดับ 300 มิลลิกรัม และ 25 มิลลิกรัม ตามลำดับ มีค่าการการนำแคลเซียมไปใช้ต่ำกว่าคือร้อยละ 15 อย่างไรก็ตาม นมถั่วเหลืองที่เสริมด้วยแคลเซียมทั้งสองชนิดนี้มีค่าความสามารถในการนำแคลเซียมไปใช้สูงกว่าแคลเซียมในนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้มีการเสริมแคลเซียม เมื่อทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลืองที่เสริมแคลเซียมทั้งสองชนิดนี้ พบว่ามีคะแนนความชอบของผลิตภัณฑ์ในระดับปานกลาง (คะแนน=7) ในขณะที่นมถั่วเหลืองที่ไม่ได้เสริมแคลเซียม มีคะแนนความชอบในระดับเล็กน้อย (คะแนน=6)

ปัจจุบันตลาดนมถั่วเหลืองเพิ่มคุณค่าหรือการเติมส่วนผสมอาหารอื่นลงไปในนมถั่วเหลือง เพื่อเพิ่มคุณประโยชน์ที่จะได้รับนอกเหนือจากโปรตีนจากถั่วเหลืองหรือนมถั่วเหลือง รสชาติใหม่ๆ กลายมาเป็นตัวผลักดันตลาดที่สำคัญนอกเหนือจากนมถั่วเหลืองรสธรรมชาติที่ผู้บริโภครับรู้ถึงประโยชน์กันดีอยู่แล้ว การผลิตนมถั่วเหลืองที่ใส่สารอาหารชนิดใหม่ลงไปและนมถั่วเหลืองที่มีความเฉพาะเจาะจงกับกลุ่มลูกค้ามากขึ้น จะเป็นจุดที่สามารถสร้างความแตกต่างจากคู่แข่งได้และเป็นแนวโน้มของตลาดนมถั่วเหลืองในอนาคต ทิศทางต่อไปของตลาดนมถั่วเหลืองคือการผสมคุณค่าอาหารเพิ่มมากขึ้นเพื่อรองรับพฤติกรรมผู้บริโภค ซึ่งไม่ได้ต้องการเฉพาะโปรตีนจากถั่วเหลืองในนมถั่วเหลืองเท่านั้น แต่ต้องการสารอาหารที่เพิ่มคุณค่าเข้าไปอีกด้วย ตัวอย่างนมถั่วเหลืองเพิ่มคุณค่าของบริษัทผู้ผลิตต่างๆ ที่มีออกมาวางจำหน่าย เช่น นมถั่วเหลืองผสมน้ำแครอท เบอร์รี่สกัด ธัญญาหาร (งาดำ ข้าวโพด ถั่วชนิดอื่นๆ) น้ำผึ้ง ชาเขียว คอลลาเจน น้ำนมข้าวโพด แคลเซียม และนอกจากนี้ยังมีนมถั่วเหลืองที่มีความเฉพาะเจาะจงกับกลุ่มผู้บริโภค เช่น นมถั่วเหลืองสูตรน้ำตาลน้อย นมถั่วเหลืองสำหรับเด็ก วัยรุ่น ผู้ใหญ่ทั้งผู้หญิงและผู้ชาย หญิงมีครรภ์ (วาตี ภู่โรจสวัสดิ์, 2550)

Table 4. Chemical composition and nutrition value of soybean milk

Nutritional value per 100 g	Cow's milk		Soymilk
	Whole	Semi-skimmed	
Protein	3.4 g	3.5 g	3.6 g
Fat	3.5 g	1.5 g	2.3 g
Carbohydrate	4.6 g	5.4 g	3.4 g
kJ	269	208	204
kcal	64	49	49
Cholesterol	10 mg	5 g	0
Lactose	4.6 g	5.4 g	0
Fatty acid composition			
Saturated	63.5 %	63.5 %	14.0 %
Poly-unsaturated	3.0 %	3.0 %	63.5 %
Mono-unsaturated	33.5 %	33.5 %	21.6 %

Source: Zeki (1992)

Table 5. Composition of soybean milk, cow's milk and mother's milk

Item/100g	Soybean milk	Dairy milk	Mother's milk
Water (g)	88.6	88.6	88.6
Calories (kcal)	52	59	62
Protein (g)	4.4	2.9	1.4
Fat (g)	2.5	3.3	3.1
Carbohydrates (g)	3.8	4.5	7.2
Ash (g)	0.62	0.7	0.20
Calcium (mg)	18.5	100	35
Sodium (mg)	2.5	36	15
Phosphorous (mg)	60.3	90	25
Iron (mg)	1.5	0.1	0.2

Source: Chaiwanon (1999)

Table 5. (Continued)

Item/100g	Soybean milk	Dairy milk	Mother's milk
Thiamine (B1) (mg)	0.04	0.04	0.02
Riboflavin (B2) (mg)	0.02	0.15	0.03
Niacin (mg)	0.62	0.20	0.20

3. ผู้สูงอายุ

ผู้สูงอายุในประเทศไทย หมายถึง ผู้ที่มีอายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป องค์การอนามัยโลกได้ให้คำจำกัดความของผู้สูงอายุ (elderly) ว่ามีอายุอยู่ระหว่าง 60-74 ปี ผู้ชรา (old) มีอายุระหว่าง 75-90 ปี และผู้ชรามาก (very old) มีอายุ 90 ปีขึ้นไป (รัชนีกร ภู่กร, 2538) ผู้สูงอายุ (อายุ 60 ปีขึ้นไป) ในประเทศไทยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องโดยในปี 2551 มีผู้สูงอายุ 7.04 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 11.16 ของประชากรทั้งประเทศ (ประชากรทั้งประเทศ 63.12 ล้านคน) (สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล, 2551) และคาดว่าในปี 2553 มีผู้สูงอายุ 7.64 ล้านคน (ร้อยละ11.36 ของประชากรทั้งประเทศ) (วิทยาลัยประชากรศาสตร์, 2548) ประเทศไทยได้เริ่มเข้าสู่สังคมผู้สูงอายุ (aging society) ในปี 2548 เป็นปีแรกโดยมีผู้สูงอายุคิดเป็นร้อยละ 10.4 ผู้สูงอายุเป็นหญิงมากกว่าชาย และผู้สูงอายุหญิงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากร้อยละ 54.4 ในปี 2546 เป็น 55.4 ในปี 2550 แต่ผู้สูงอายุชายมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยจากร้อยละ 45.6 ในปี 2546 เหลือ 44.6 ในปี 2550 ผู้สูงอายุประมาณ 1 ใน 3 อาศัยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี เช่นเดียวกับภาคใต้มีผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นเช่นกัน สำหรับในภาคอื่นๆ (กรุงเทพฯ ภาคกลาง และภาคเหนือ) พบว่ามีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย สาเหตุหลักที่ทำให้ประชากรผู้สูงอายุเพิ่มขึ้นมีอยู่ 2 ประการ คือ การมีอัตราเจริญพันธุ์รวมลดลง และประชากรมีอายุยืนยาวขึ้น (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2551)

วัยสูงอายุเป็นวัยที่มีการเปลี่ยนแปลงจึงควรให้การดูแลเอาใจใส่เป็นพิเศษทั้งด้านร่างกายและจิตใจ ที่อยู่อาศัย รายได้ การมีส่วนร่วมทางสังคม สุขภาพ อาหารและโภชนาการ เมื่อมีอายุมากขึ้นจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของร่างกาย ความสามารถทางประสาทสัมผัส ระบบภายในร่างกาย และระบบภูมิคุ้มกัน การแก่ชราไม่สามารถหยุดยั้งได้ แต่สามารถควบคุมการใช้ชีวิตเพื่อช่วยให้มีสุขภาพดีในวัยสูงอายุได้ ด้วยทางเลือกต่างๆ เช่น อาหาร การออกกำลังกาย การไม่สูบบุหรี่และดื่มแอลกอฮอล์ ซึ่งสิ่งเหล่านี้ไม่เพียงแต่ส่งผลต่อความเสี่ยงในการเจ็บป่วยเรื้อรังแต่ยังมีผลต่ออัตราการแก่ตัวด้วย (Insel *et al*., 2004) การเปลี่ยนแปลงด้านร่างกายจะเกิดขึ้นช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับการดูแลสุขภาพของแต่ละบุคคลตั้งแต่ก่อนที่จะเข้าสู่วัยสูงอายุ ส่วนการเปลี่ยนแปลงด้านจิตใจ

มักเกิดจากปัญหาเกี่ยวกับภาวะทุพพลภาพของผู้สูงอายุที่ต้องพึ่งพาคนอื่น การหยุดทำงาน การเสียบทบาททางสังคมและครอบครัวรวมทั้งปัญหาอื่นๆ การเปลี่ยนแปลงทางด้านร่างกายที่จะส่งผลต่อสุขภาพในผู้สูงอายุมีด้วยกันหลายประการ (Insel *et al*., 2004) เช่น

1. น้ำหนักและองค์ประกอบของร่างกาย ผู้ที่มีน้ำหนักมากเกินเมื่อมีอายุมากกว่า 50 ปีนั้นจะเป็นการเพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังมีส่วนทำให้เป็นโรคเบาหวาน ความดันสูง และมะเร็งบางชนิดอีกด้วย ในทางตรงกันข้ามผู้ที่มีร่างกายสมส่วน มีสุขภาพดีและออกกำลังกายก็จะมีสุขภาพที่ดีในวัยสูงอายุ ส่วนผู้สูงอายุที่น้ำหนักลดลงเนื่องมาจากการเจ็บป่วยเป็นประจำนั้นจะทำให้เพิ่มความเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยอื่นๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคกระดูกพรุน โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าการผอมนั้นเกิดจากการสูบบุหรี่หรือการดื่มแอลกอฮอล์ก็จะยิ่งทำให้ร่างกายอ่อนแอและเสื่อมโทรมลง

2. ความสามารถในการเคลื่อนไหว เมื่อแก่ตัวปริมาณและความแข็งแรงของกล้ามเนื้อก็เสื่อมลง โดยทั่วไปแล้วสรีระร่างกายที่มีผลต่อการเคลื่อนไหวเริ่มเสื่อมลงด้วยอัตราประมาณหรือมากกว่าร้อยละ 1 ต่อปี ตั้งแต่อายุประมาณ 30 ปี เนื่องจากพฤติกรรมที่ไม่ดี กระดูกเสื่อม และการฟื้นฟูของกล้ามเนื้อลดลง ทำให้สภาพร่างกายเริ่มเสื่อมลงเมื่อมีอายุ 50 ปี ซึ่งสิ่งเหล่านี้จะมีผลต่อการทำหน้าที่ของปอดและหลอดเลือดหัวใจ การเคลื่อนไหว และสมดุลในร่างกาย โรคต่างๆ เช่น เส้นเลือดอุดตันในสมอง ข้ออักเสบ และโรคเบาหวาน กลายเป็นโรคที่มักจะพบในผู้สูงอายุโดยทั่วไปและอาจจะเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหายแก่ร่างกายอย่างรุนแรง หากไม่ได้รับการรักษาและดูแลเรื่องอาหารก็จะทำให้การทำงานของกล้ามเนื้อลดลง

3. ภูมิคุ้มกันโรค เมื่ออายุ 50 ปี กลไกการป้องกันของร่างกายเริ่มอ่อนแอลง ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสูญเสียความสามารถบางอย่างในการต่อต้านไวรัส แบคทีเรีย และสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ ผู้สูงอายุจะติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบนได้ง่าย เช่น โรคไข้หวัดใหญ่และโรคปอดบวม การติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ความดันโลหิต และการเจ็บป่วยที่เกิดจากอาหาร ตัวขัดขวางทางกายภาพเพื่อไม่ให้ติดเชื้อ สิ่งแปลกปลอม และสารเคมีในผู้สูงอายุนั้นอ่อนแอลง ตัวขัดขวางดังกล่าว ได้แก่ผิวหนัง สภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร การกลืนและการไอ การบริโภคโปรตีนที่ไม่เพียงพอทำให้เป็นอันตรายต่อระดับภูมิคุ้มกันและสุขภาพของผู้สูงอายุได้ การเบื่ออาหาร เคี้ยวยาก เงินที่มีจำกัด ความกังวลเกี่ยวกับการบริโภคไขมัน หรือการแพ้แลคโตสในนมวัว เป็นผลให้ผู้สูงอายุลดการบริโภคเนื้อและผลิตภัณฑ์นม ทำให้พวกเขาได้รับแคลอรี โปรตีนและสารอาหารจำเป็นอื่นๆ ไม่เพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย การขาดโปรตีน วิตามินและเกลือแร่ชนิดต่างๆ ซึ่งปกติแล้วได้รับมาจากอาหารพวกเนื้อสัตว์ (เช่น วิตามิน บี6 บี12 และดี

แคลเซียม เหล็ก และสังกะสี) นั้นจะส่งผลให้ภูมิคุ้มกันถูกทำลาย ปริมาณกล้ามเนื้อลดลง บาดแผลหายช้า และกระดูกพรุน

4. การรับรสและการดมกลิ่น ในผู้สูงอายุระดับการรับรสเริ่มต้นหรือปริมาณต่ำสุดของกลิ่นรสที่ทำให้รับรสได้นั้นมากกว่าสองเท่าของคนวัยเรียนมหาวิทยาลัย ความไวต่อการรับรสหวานและเค็มของผู้สูงอายุจะเสื่อมลงเป็นอันดับแรก ผู้สูงอายุจึงมักจะทานอาหารที่มีน้ำตาลและเกลือในปริมาณที่สูงทำให้เพิ่มปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพที่เกิดจากการบริโภคสารเหล่านี้มากเกินไป เนื่องด้วยการรับรส และประสาทสัมผัสในการดมกลิ่นที่ลดลงเมื่อแก่ตัว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่ออายุ 70 ปี หรืออายุมากกว่านี้ จึงมีความคิดที่ว่าผู้สูงอายุควรทานอาหารที่รสชาติอ่อนๆ ซึ่งความคิดนี้เป็นความคิดที่ผิดเพราะถ้าอาหารนั้นมีกลิ่นรสและกลิ่นที่มาก ก็จะทำให้ทั้งผู้สูงอายุผู้ที่มีสุขภาพดีและผู้สูงอายุที่กำลังป่วยรู้สึกว่าอาหารนั้นน่ารับประทานและรับประทานอาหารมากขึ้น ดังนั้นจึงเป็นการช่วยให้ผู้สูงอายุได้รับสารอาหารเพิ่มขึ้นนั่นเอง

5. การเปลี่ยนแปลงของระบบทางเดินอาหาร การผลิตน้ำลายมีแนวโน้มลดลงเมื่อแก่ชราโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ที่ได้รับยาสำหรับรักษาโรคหัวใจ การมีน้ำลายน้อยมีผลต่อการย่อยอาหารเบื้องต้นในปากและทำให้เป็นโรคเหงือก เมื่อแก่ตัวน้ำคัดหลั่งสำหรับการย่อยจะลดลงโดยเฉพาะการลดลงของกรดไฮโดรคลอริกและเปปซินซึ่งเป็นน้ำคัดหลั่งในกระเพาะอาหาร ส่งผลทำให้กระเพาะอาหารอักเสบได้ ซึ่งการอักเสบเรื้อรังของเยื่อบุกระเพาะอาหารนั้นเป็นเรื่องปกติของผู้สูงอายุ กระเพาะอาหารอักเสบจะส่งผลต่อการย่อยโปรตีนและรบกวนการดูดซึมของธาตุเหล็ก แคลเซียม วิตามินบี12 วิตามินบี5 และโฟเลท อาการท้องผูก เกิดแก๊ส และโรคลำไส้ใหญ่บวม เนื่องจากแก๊สนั้นมักจะเป็นปัญหาสำหรับผู้สูงอายุ ปัญหาเหล่านี้เกิดจากการเคลื่อนที่ที่ช้าของทางเดินอาหารร่วมกับการทำกิจกรรมหรือออกกำลังกายน้อยลง รับประทานอาหารที่มีใยอาหารน้อย และรับประทานน้ำน้อย

การเสื่อมสภาพในวัยสูงอายุส่งผลให้ผู้สูงอายุเกิดการเจ็บป่วยได้ง่าย กลุ่มโรคที่ผู้สูงอายุป่วยมาก 3 อันดับแรก คือ กลุ่มโรคระบบกล้ามเนื้อ เส้นเอ็น กระดูกและข้อ กลุ่มโรคระบบทางเดินหายใจ และกลุ่มโรคหัวใจหลอดเลือด (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2551) ผู้สูงอายุมักจะเผชิญกับปัญหาสุขภาพอีกมากมาย เช่น ภาวะซึมเศร้า เบื่ออาหาร ข้ออักเสบ ปัญหาการควบคุมลำไส้และกระเพาะปัสสาวะ สุขภาพฟัน ปัญหาการมองเห็น กระดูกพรุน และโรคความจำเสื่อม (Insel *et al*., 2004) นอกจากนี้ยังต้องเผชิญกับปัญหาด้านโภชนาการ ผู้สูงอายุจะต้องดูแลการบริโภคอาหารเพื่อให้ร่างกายได้รับอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ให้พลังงานเพียงพอ และให้สารอาหารโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่อย่างครบถ้วน (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2551) เพื่อช่วยลดปัญหาความเจ็บป่วยและชะลอความแก่หรือความเป็นผู้สูงอายุไว้ได้นาน มีสุขภาพที่แข็งแรงและไม่มี

โรคภัย ผู้สูงอายุเป็นวัยที่มีความต้องการพลังงานและสารอาหารบางชนิดลดน้อยลงเมื่อเทียบกับวัยหนุ่ม-สาว เนื่องมาจากความเปลี่ยนแปลงของสภาพร่างกาย การเคลื่อนไหว การใช้พลังงานในการทำงาน ผู้สูงอายุมีความต้องการพลังงานและสารอาหารต่างๆ ดังนี้

1. พลังงาน ผู้บริโภคสูงอายุมีความต้องการพลังงานลดลงเมื่อเทียบกับวัยหนุ่ม-สาว ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานของอวัยวะต่างๆ ภายในร่างกายทำงานน้อยลง คณะกรรมการร่วม FAO/WHO เสนอแนะให้ลดพลังงานจากอาหารลงร้อยละ 5 ต่อทุก 10 ปี ของอายุที่เพิ่มขึ้นจนถึงอายุ 59 ปี เมื่ออายุ 60-69 ปี ให้ลดพลังงานจากอาหารลงร้อยละ 10 และเมื่ออายุ 70 ปีขึ้นไป ให้ลดพลังงานลงไปอีกเป็นร้อยละ 20 ของพลังงานที่ต้องการในวัยหนุ่ม-สาว สำหรับคนไทย กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ได้แนะนำให้ลดพลังงานลงโดยเฉลี่ย 100 กิโลแคลอรี่ต่อทุกอายุ 10 ปี ที่เพิ่มขึ้น และในผู้ที่มีอายุ 60 ปี ควรได้รับพลังงานประมาณ 2,200 กิโลแคลอรี่ต่อวัน และไม่ควรได้รับพลังงานต่ำกว่า 1,200 กิโลแคลอรี่ต่อวัน เพราะจะทำให้ร่างกายได้รับสารอาหารวิตามินและเกลือแร่บางชนิดไม่เพียงพอแก่ความต้องการของร่างกายได้ (รุจิรา สัมมะสุต, 2543)

2. โปรตีน ความต้องการโปรตีนนั้นไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อสูงอายุ (Insel *et al*., 2004) โปรตีนเป็นสารอาหารที่ช่วยในการเสริมสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย ผู้เชี่ยวชาญและคณะกรรมร่วมของ FAO/WHO/UNU ได้เสนอแนะปริมาณโปรตีนในวัยสูงอายุว่า ควรเป็นร้อยละ 10-12 ของพลังงานที่ได้รับหรือประมาณ 0.75-0.8 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม จากข้อกำหนดปริมาณสารอาหารที่ควรได้รับสำหรับคนไทยนั้น ได้กำหนดไว้ว่าผู้สูงอายุควรได้รับสารอาหารโปรตีนวันละ 44-51 กรัม (รุจิรา สัมมะสุต, 2543)

3. ไขมัน ไขมันและน้ำมันเป็นสารอาหารที่ให้พลังงานสูง ถ้ารับประทานในปริมาณมาก จะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคอ้วน โรคความดันโลหิตสูง ภาวะไขมันสูงในเลือด โรคเบาหวาน และโรคมะเร็งบางชนิด ผู้ที่มีสุขภาพดีไม่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจควรบริโภคไขมันร้อยละ 20-35 ของพลังงานจากไขมันต่อวัน ซึ่งจะต้องไม่เกินร้อยละ 8-10 ของพลังงานจากไขมันอิ่มตัว และควรบริโภคคอเลสเตอรอลไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อวัน (Insel *et al*., 2004) สมาคมโรคหัวใจแห่งสหรัฐอเมริกา ได้เสนอแนะว่าไม่ควรบริโภคไขมันเกินร้อยละ 30 ของพลังงานที่ได้รับในแต่ละวัน น้ำมันและไขมันที่บริโภคควรเลือกชนิดที่ได้มาจากพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะกอก เพราะไม่มีคอเลสเตอรอล แต่มีกรดลิโนเลอิก (Linoleic) สูง ซึ่งกรดนี้มีคุณสมบัติช่วยละลายไขมันในหลอดเลือดได้ (รุจิรา สัมมะสุต, 2543)

4. คาร์โบไฮเดรต ผู้สูงอายุควรได้รับคาร์โบไฮเดรตประมาณร้อยละ 50-60 ของพลังงานและควรเลือกคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน คือ ข้าว แป้ง เผือก มัน หรือผลิตภัณฑ์จากธัญพืช

อื่นๆ และหลีกเลี่ยงและรับประทานคาร์โบไฮเดรตเชิงเดี่ยวให้น้อยลง ซึ่งได้แก่ น้ำตาล น้ำหวาน ขนมหวานต่างๆ เพราะจะทำให้อ้วนและเกิดปัญหาของไขมันในเลือดสูงได้ (รุจิรา สัมมะสุต, 2543) ใยอาหารเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่มีประโยชน์มากมายเช่น ป้องกันอาการท้องผูกและการเกิดถุงที่ผนังอวัยวะ สามารถลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ และลดคอเลสตอรอลในเลือดได้ ผู้ที่อายุมากกว่า 50 ปีควรทานใยอาหาร 30 กรัม และ 21 กรัมต่อวันสำหรับผู้ชายและผู้หญิงตามลำดับ (Insel *et al*., 2004)

5. วิตามิน วิตามินเป็นสารอาหารอีกชนิดหนึ่งที่จำเป็นสำหรับร่างกายเพื่อช่วยในการเผาผลาญอาหารที่บริโภคให้เป็นพลังงาน และสามารถนำไปใช้ในร่างกาย ทำให้ร่างกายสามารถทำงานได้ตามปกติ เพิ่มภูมิต้านทานโรคและสร้างสารเคมีที่จำเป็นสำหรับร่างกาย (รุจิรา สัมมะสุต, 2543) ผู้สูงอายุจะต้องการวิตามินดี วิตามินบี12 และแคลเซียมเพิ่มมากขึ้นในขณะที่ความต้องการวิตามินบางชนิดนั้นยังเท่าเดิม การบริโภคแคลเซียมที่เพียงพอนั้นสามารถลดการเสื่อมของกระดูกและกระดูกหักได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างมากที่ผู้สูงอายุจะต้องรับประทานอาหารที่มีสารอาหารอย่างเพียงพอ วิตามินดีช่วยในการเสริมสร้างกระดูกซึ่งผู้สูงอายุส่วนใหญ่อยู่ในภาวะมีวิตามินดีอยู่น้อย ผู้ที่มีอายุระหว่าง 51-70 ปี ควรได้รับวิตามินดี 10 ไมโครกรัมต่อวัน และผู้ที่มีอายุ 70 ปีขึ้นไปควรได้รับวิตามินดี 15 ไมโครกรัมต่อวัน ในขณะที่คนในวันหนุ่มสาวต้องการวิตามินดีเพียง 5 ไมโครกรัมต่อวันเท่านั้น วิตามินบีจากการศึกษาอย่างแพร่หลายพบว่าการขาดโฟเลท วิตามินบี6 และวิตามินบี12 จะไปเพิ่มระดับโฮโมซิสเทอินในเลือดซึ่งจะทำให้เพิ่มความเสี่ยงในการเป็นโรคหลอดเลือดหัวใจ ผู้สูงอายุมักจะขาดวิตามินบี12 ซึ่งมีประมาณร้อยละ 3-40 ของผู้สูงอายุทั้งหมด ทั้งนี้เพราะว่าร้อยละ 10-30 ผู้สูงอายุจะสูญเสียความสามารถในการดูดซึมวิตามินบี12 ที่อยู่ในโปรตีนจากอาหารที่รับประทานเข้าไปนั่นเอง ผู้ที่มีอายุ 50 ปีขึ้นไปควรได้รับวิตามินบี12 ปริมาณ 2.4 ไมโครกรัมต่อวัน (Insel *et al*., 2004)

6. เกลือแร่ เกลือแร่เป็นสารอาหารอีกชนิดหนึ่งที่พบว่ามีการขาดในผู้สูงอายุ อาทิ เช่น แคลเซียม สังกะสี แมกนีเซียม และธาตุเหล็ก แคลเซียมซึ่งช่วยลดอัตราการเสื่อมของกระดูกและกระดูกหักโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณตะโพก เมื่อสูงอายุเราจะดูดซึมแคลเซียมได้น้อยลงส่วนหนึ่งเป็นเพราะสูญเสียวิตามินดีรีเซปเตอร์ (vitamin D receptor) ในลำไส้ นอกจากนี้การอักเสบของกระเพาะอาหารก็ทำให้ลดการดูดซึมแคลเซียมด้วยเช่นกัน สำหรับผู้ที่อายุ 51 ปีขึ้นไป ควรได้รับแคลเซียม 1,200 มิลลิกรัมต่อวัน ซึ่งปริมาณมากกว่าคนในวัยหนุ่มสาวอยู่ 200 มิลลิกรัมต่อวัน ความเครียดโดยเฉพาะอย่างยิ่งกับผู้สูงอายุที่ต้องรักษาอยู่ในโรงพยาบาลดูเหมือนว่าจะมีความเสี่ยงในการขาดสังกะสีและมีผลต่อภูมิคุ้มกัน จากการศึกษาพบว่าการให้ผู้ที่อยู่ในภาวะขาดสังกะสีรับประทานสังกะสีจะช่วยให้การรักษาบาดแผลหายเร็วขึ้น แต่ก็ต้องระมัดระวังไม่ให้ได้รับสังกะสี

มากเกินไปเพราะจะมีผลต่อการดูดซึมของแร่ธาตุอื่นๆ และทำให้ระดับเอชดีแอลคอเลสเตอรอล (high-density lipoprotein (HDL) cholesterol) ต่ำลง แมกนีเซียมมีบาทบาทสำคัญต่อปฏิกิริยาภายในเซลล์ ภาวะขาดแมกนีเซียมจะพบในคนที่เป็นโรคการดูดซึมของลำไส้บกพร่องซึ่งคนเหล่านี้มักจะเป็นคนขาดสารอาหาร โรคพิษสุราเรื้อรัง และผู้สูงอายุ อย่างไรก็ตามสาเหตุส่วนใหญ่เป็นเพราะได้รับแมกนีเซียมไม่เพียงพอ ส่วนการขาดธาตุเหล็กในผู้สูงอายุนั้นส่วนใหญ่เป็นเพราะการบริโภคเนื้อแดง ปลา และสัตว์ปีกอย่างจำกัด ซึ่งอาจจะเป็นเพราะการรับรสที่เปลี่ยนไป ฐานะทางการเงิน ปัญหาเรื่องฟัน หรือหลายๆ ปัจจัยรวมกัน (Insel *et al*., 2004)

7. น้ำ น้ำเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการทำงานของร่างกายทุกส่วน ถ้าทานน้ำไม่เพียงพอก็จะเป็นอุปสรรคต่อการเผาผลาญภายในเซลล์ ในผู้สูงอายุความรู้สึกกระหายน้ำและการทำงานของไตที่ลดลงจะทำให้เกิดสภาวะขาดน้ำ ผู้ที่ทานยาขับปัสสาวะ แอลกอฮอล์ และคาเฟอีนก็จะยิ่งทำให้เพิ่มการสูญเสียน้ำและทำให้เกิดสภาวะขาดน้ำได้ นักวิทยาศาสตร์ประเมินว่าร่างกายต้องการน้ำ 1 มิลลิลิตรต่อ 1 กิโลแคลอรีของอาหารที่รับประทาน (Insel *et al*., 2004)

4. พรีไบโอติก

4.1 ความหมายและคุณสมบัติของพรีไบโอติก

พรีไบโอติก (prebiotics) คือ ส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ซึ่งมีประโยชน์ต่อเจ้าบ้านโดยจะมีผลเจาะจงในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและ/หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่ ซึ่งทำให้สุขภาพของเจ้าบ้านดีขึ้น (Gibson and Roberfroid, 1995) พรีไบโอติกเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรทที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ ไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนหรือลำไส้เล็ก และสามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ซึ่งเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์เจ้าถิ่น โดยจะส่งเสริมการเจริญเติบโตเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่เท่านั้น ได้แก่ bifidobacteria และ lactobacilli นอกจากนี้จะต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Clostridium perfrigens* (Vernazza *et al*., 2006; Gibson and Roberfroid, 1995) ซึ่งมีผลในการส่งเสริมสุขภาพของผู้ที่รับประทานเข้าไป (Roberfroid, 2002) สารประกอบจำพวกโอลิโก-แซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์รวมทั้งเส้นใยอาหาร (dietary fibre) ส่วนใหญ่นั้นกล่าวได้ว่ามีกิจกรรมเป็นพรีไบโอติก แต่สารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดก็ไม่ได้เป็นพรีไบโอติก ในการจะจำแนกว่าส่วนประกอบอาหารชนิดนั้นมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกหรือไม่นั้น ส่วนประกอบอาหารดังกล่าวจะต้องมีคุณสมบัติทั้งหมดนี้ (Gibson, 2004; Gibson and Roberfroid, 1995)

1. ทนต่อกระบวนการย่อย การดูดซึมและดูดซับของกระเพาะอาหารและสำไส้เล็ก
2. ถูกหมักโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่

3. มีผลเจาะจงในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และ/หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางชนิดในระบบทางเดินอาหาร

4. ทำให้จุลินทรีย์นั้นสร้างสารที่ส่งผลดีต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน

ทารกในครรภ์นั้นปราศจากเชื้อจุลินทรีย์โดยสิ้นเชิงแต่เมื่อคลอดออกมาก็มีเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารเกิดขึ้น ทารกที่ดื่มนมมารดาจะมีจำนวนของ bifidobacteria ค่อนข้างสูงกว่าทารกที่ดื่มนมสำหรับเด็กเมื่อเทียบในทารกที่มีอายุเท่ากัน (Fuller, 1991 อ้างโดย Vernazza *et al*., 2006) ซึ่งทารกที่ดื่มนมมารดาจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ทางเดินหายใจ และทางเดินปัสสาวะต่ำกว่า (Kunz and Rudloff, 1993) ในวัยทารกตอนปลายจำนวน bifidobacteria นั้นลดลงเนื่องจากได้รับอาหารอื่นๆ เข้าไป แต่เมื่ออายุประมาณ 2 ปี จำนวนจุลินทรีย์ก็เพิ่มจำนวนขึ้นใกล้เคียงกับวัยผู้ใหญ่ และเมื่ออายุมากขึ้นจำนวนจุลินทรีย์ก็ค่อนข้างจะคงที่ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอาหารที่รับประทานเข้าไปด้วย จนกระทั่งเมื่อถึงวัยชราจำนวนของ bifidobacteria นั้นจะลดลง ส่วนจำนวน clostridia และ enterobacteriaceae กลับเพิ่มขึ้น (Mitsuoka, 1990) นอกจากนี้การรับประทานยาปฏิชีวนะ ป่วย และความเครียดก็มีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ลดลงด้วยเช่นกัน (Rice, 2002) โดยผู้ใหญ่ที่มีอายุมากกว่า 55 ปี จำนวน bifidobacteria ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับวัยหนุ่มสาว ทำให้ความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคของผู้สูงอายุนั้นลดลง การบริโภคพรีไบโอติกจึงเป็นการช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ของผู้สูงอายุและช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค (Manning and Gibson, 2004) อย่างไรก็ตามแม้ว่าจำนวน bifidobacteria จะมีความแตกต่างกัน แต่จากการศึกษาพบว่ากิจกรรมเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในอุจจาระไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างวัยเด็ก ผู้ใหญ่ และผู้สูงอายุ (Isolauri *et al*., 2004)

โอลิโกแซคคาไรด์ คือ คาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ นอกจากพบได้ในพืชแล้วยังพบได้ในนมมนุษย์และนมหลังออกลูกของสัตว์หลายชนิด ซึ่งอยู่ในรูปน้ำตาลอิสระหรือ glycoconjugates ปัจจุบันโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้รับความสนใจอย่างมากเพราะเป็นแหล่งคาร์บอนที่แบคทีเรียในลำไส้นำไปใช้ได้ง่ายที่สุด คาร์โบไฮเดรตเหล่านี้เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วจะไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กและจะเคลื่อนไปยังบริเวณลำไส้เล็กส่วนปลายโดยที่ไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่าง เมื่อเคลื่อนไปถึงลำไส้ใหญ่ก็จะเป็นแหล่งอาหารให้กับแบคทีเรียที่มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ในบริเวณนั้น เมื่อแบคทีเรียเหล่านี้หมักสารพรีไบโอติก ทำให้พีเอชลดลงและผลิตกรดไขมันที่มีสายสั้น (short-chain fatty acid, SCFA) ได้แก่ acetate, butyrate, propionate และ lactate มีผลทำให้จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคลดลงและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (Vernazza *et al*., 2006) ส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารมีความสมดุล กระตุ้นให้ลำไส้มีการบีบตัว

และเคลื่อนตัวของอุจจาระ จึงเป็นการช่วยป้องกันและลดอาการท้องผูก และยังเป็นการลดระยะเวลาการสัมผัสและสะสมสารพิษและสารก่อมะเร็งตามผนังลำไส้ จึงช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกัน ป้องกันและลดโรคท้องร่วงทั้งที่เกิดจากแบคทีเรียและไวรัส ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุโดยเฉพาะเหล็กและแคลเซียม ลดเอนไซม์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็ง ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด อีกทั้งยังช่วยบรรเทาอาการแน่นท้องหรือท้องเสียในคนที่แพ้แลคโตสในนมวัวเนื่องจากไม่สามารถย่อยแลคโตสได้ เพราะโพรไบโอติกบางสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ β-galactosidase ได้ (Manning and Gibson, 2004; Holzapfel and Schillinger, 2002; Kaur *et al*., 2002) พรีไบโอติกที่นิยมนำมาใช้กันมาก คือ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharides), อินนูลิน (inulin), กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (gluco-oligosaccharides) และแลคทูโลส (lactulose) (Manning and Gibson, 2004) ซึ่งพบได้ในธรรมชาติและสามารถนำมาประยุกต์ใช้และเสริมในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เป็นอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับผู้บริโภคที่ต้องการมีสุขภาพที่ดี (Holzapfel and Schillinger, 2002) การเสริมพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์ต่างๆ นั้นมีจุดมุ่งหมายเพื่อส่งเสริมการเจริญของ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ให้แก่ผู้บริโภค พรีไบโอติกถูกนำมาเสริมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เครื่องดื่ม ซอสปรุงรส เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ธัญพืช ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ขนมปังกรอบ นมสำหรับทารกและอาหารสำหรับเด็กเล็ก ซุป เค้ก ขนมหวาน น้ำสลัด และผลิตภัณฑ์นม (Manning and Gibson, 2004) พรีไบโอติกสามารถประยุกต์ใช้ในอาหารได้หลากหลายกว่าโพรไบโอติกมาก เนื่องจากโพรไบโอติกนั้นมีข้อจำกัดเรื่องการอยู่รอดของเชื้อ ไม่ทนต่อความร้อนและไม่สามารถสัมผัสกับออกซิเจนได้ (Manning and Gibson, 2004) นอกจากนี้พรีไบโอติกสกัดที่มีขายในทางการค้ามีคุณสมบัติละลายน้ำได้ ปราศจากกลิ่น มีความหวานใกล้เคียงกับน้ำตาล (Rice, 2002) โดยทั่วไปมีความหวานร้อยละ 30-60 ของน้ำตาลซูโครส (Belitz *et al*., 2004) และมีใยอาหารร้อยละ 88 อีกทั้งยังคงตัวต่อกรด ความร้อน การแช่เยือกแข็งและการทำละลาย จึงสามารถนำไปผ่านกระบวนการแช่แข็ง นึ่ง ต้ม ปิ้ง อบ ย่าง ให้ความร้อนซ้ำ หรือทอดได้ (Rice, 2002)

ได้มีการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยพวกโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆ อย่างมากมาย ทั้งนี้เพื่อต้องการทราบปริมาณของสารแต่ละชนิดที่ควรเติมในอาหารเพื่อให้เกิดผลของพรีไบโอติก (prebiotic effect) ในการวัดผลของพรีไบโอติกส่วนใหญ่จะศึกษาจากการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์พวก bifidobacteria และ lactobacilli (Vernazza *et al*., 2006; Fuller and Gibson, 1998) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีอิทธิพลในการรักษาและป้องกันโรคในเด็กและผู้ใหญ่ (Salminen *et al*., 1998) ผลของพรีไบโอติกที่แสดงออกมานี้จะขึ้นอยู่กับปริมาณพรีไบโอติกที่ใช้และระดับของ bifidobacteria เริ่มต้นในลำไส้ ซึ่งถ้าเชื้อชนิดใดมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นต่ำที่สุดก็จะ

เพิ่มจำนวนเชื้อได้มากที่สุดเห็นได้จากการศึกษาของ Rycroft และคณะ (2001) ในนมมารดามีปริมาณ *Bifidobacterium* spp. อยู่มากซึ่งจะช่วยต้านทานโรคที่เกิดในเด็กและป้องกันเชื้อก่อโรคในลำไส้ (Vernazza *et al*., 2006)

ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์มีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น *Bifidobacterium*, *Eubacterium* และ *Lactobacillus* และเป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น *Clostridium*, *Shigella* และ *Veillonella* (Roberfroid, 2001) ตามคำจำกัดความของพรีไบโอติก พรีไบโอติกนั้นจะต้องกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์และจะต้องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมดุลจุลินทรีย์โดยรวมในลำไส้ใหญ่ การเลี้ยงโดยวิธีการหมักของแบคทีเรียในลำไส้มนุษย์ด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ไอโซมอลโต-โอลิโกแซคคาไรด์ และแลคทูโลส สามารถเพิ่มจำนวน bifidobacteria และ lactobacilli และยังทำให้จำนวน clostridia และ bacteroides ลดลงอีกด้วย (Rycroft e*t al*., 2001)

4.2 ชนิดของพรีไบโอติก

โดยทั่วไปพรีไบโอติกจะเป็นสารประกอบพวกโอลิโกแซคคาไรด์ ได้แก่ ฟรุกโต-โอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรทที่พบได้ในธรรมชาติและนิยมใช้อย่างแพร่หลาย โดยพรีไบโอติกที่นิยมใช้ในระดับอุตสาหกรรมชนิดอื่นๆ ได้แก่ ฟรุกโตโอลิโกแซคคา-ไรด์ ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นต้น ดังแสดงใน Table 6

4.2.1 โอลิโกแซคคาไรด์ในธรรมชาติ

4.2.1.1 ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน (Fructo-oligosaccharides, FOS and Inulin)

อินนูลินเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharides) อยู่ในกลุ่มฟรุคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ มีฟรุคโตส (fructose) เป็นองค์ประกอบ โครงสร้างประกอบด้วย Glu α1-2[βFru1-2]$_n$ โดย n>10 อินนูลินมีโครงสร้างสัมพันธ์กับฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ แต่ฟรุกโตโอลิโกแซคคา-ไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (degree of polymerization, DP) อยู่ในช่วง 2-60 โมเลกุลที่มี DP มากกว่า 20 ก็คืออินนูลิน ฟรุกโตโอลิโก-แซคคาไรด์พบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในพืช แบคทีเรีย และราบางชนิด ซึ่งพบได้ในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด เช่น ชิคคะรี (chicory) หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวสาลี หัวหอม กระเทียม Jerusalem artichock มันฝรั่ง และกล้วย อินนูลินที่มีขายทางการค้าส่วนใหญ่จะสกัดจากหัวชิคคะรี โดยมีอินนูลินและโอลิโกฟรุกโตสประมาณ 150-200 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 80-120 มิลลิกรัมต่อกรัมของหัวชิคคะรีตามลำดับ (Kolida, 2000; Flickinger, 2003; Gibson, 2004) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในทางการค้า

ที่อยู่ในรูปของเหลวนั้นประกอบด้วย 1-kestose (GF_2) ร้อยละ 25-30 (w/w), nystose (GF_3) ร้อยละ 10-15, 1^F-fructofuranosylnystose (GF_4) ร้อยละ 5-10 และกลูโคสร้อยละ 25-30 (Kim *et al*., 2000) มีการผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินเป็นจำนวนมากในหลายประเทศและถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ขนมปังกรอบ เครื่องดื่ม โยเกิร์ต อาหารเช้าธัญพืช และสารให้ความหวาน (Gibson, 2004) เนื่องจากมีความหวานเหมือนน้ำตาล ไม่มีกลิ่น ละลายในน้ำได้ดี สามารถทนต่อพีเอช ความร้อน และการแช่แข็งได้ในช่วงกว้าง (Rice, 2002) นอกจากนี้อินนูลินยังมีสมบัติเชิงหน้าที่ที่น่าสนใจ คือ สามารถใช้เป็นสารให้ความหวานที่มีแคลอรี่ต่ำ (low-calorie sweetener) สารทดแทนไขมัน (fat substitute) และสารช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัส (texture modifier) (Tungland and Meyer, 2002) ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับค่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (DP) โดยอินนูลินสายสั้น (short-chain inulin) หรือโอลิโกฟรุกโตสสามารถละลายน้ำได้มากกว่าและหวานกว่าอินนูลินธรรมชาติ (native inulin) ซึ่งจะมีรสหวานเหมือนน้ำตาลซูโครสแต่มีระดับความหวานน้อยกว่า (ระดับความหวานร้อยละ 30-35 ของน้ำตาลซูโครส) และมีแคลอรี่ต่ำกว่า (1–2 kcal/g) ดังนั้นจึงสามารนำไปใช้ประโยชน์เพื่อแทนน้ำตาลซูโครสแค่บางส่วนหรือทั้งหมดในสูตรของอาหารได้ ส่วนอินนูลินสายยาว (long-chain inulin) ซึ่งมีค่า DP สูงกว่า (DP22-25) จะสามารถทนต่อความร้อนได้ดีกว่า ละลายน้ำได้น้อยกว่า และจะมีความหนืดมากกว่าอินนูลินปรกติ (Wada *et al.,* 2005)

ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ หรืออินนูลินจะไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กแต่จะถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ได้เป็นกรดไขมันสายสั้น และกระตุ้นการเจริญเติบโตเฉพาะแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น bifidobacteria, lactobacilli และ eubacteria โดยจะไม่ให้ประโยชน์แก่แบคทีเรียก่อโรค bifidobacteria นั้นมีความสามารถในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในมนุษย์ได้ และสามารถลดอันตรายจากจุลินทรีย์ก่อโรคและโรคในลำไส้ได้ทั้งในการทดลองระดับห้องปฏิบัติการและในระดับสัตว์ทดลอง (Flickinger, 2003)

จากการศึกษาพบว่าการบริโภค FOS ปริมาณอย่างน้อยที่สุด 4 กรัมต่อวัน จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ bifidobacteria ในลำไส้ของมนุษย์อย่างมีนัยสำคัญ แต่จะให้ผลดียิ่งขึ้นถ้ารับประทาน 8 กรัมต่อวัน (Manning and Gibson, 2004) จากการทดลองในอาสาสมัครโดยให้รับประทานฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ปริมาณ 15 กรัมต่อวัน พบว่ามีปริมาณ *Bifidobacterium* ในอุจจาระเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า และมีปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคเช่น Clostridia และ Enterobacteria ลดลง นอกจากนี้มีการทดสอบให้คนชรารับประทานฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 8 กรัมต่อวัน พบว่าปริมาณแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในอุจจาระเพิ่มขึ้น 10 เท่า (Macfarlane and Cumming, 1998)

Table 6. Composition (given in % by weight) of some candidate prebiotics available for human consumption[a]

Product name	Composition envisaged by	Dry Matter	Ara	Xyl	Man	Gal	Glc	Total
Fructooligosaccharide	Suntory, Japan	94.0	-	-	34.0	0.2	53.3	87.4±1.3
Isomaltooligosaccharide	Showa Sangyo, Japan	77.8	-	-	-	-	29.8	29.8±0.5
Oligomate	Yakult, Japan	74.9	0.1	-	0.8	18.6	22.7	42.2±2.5
Palatinose	Sudzucker, Germany	92.6	0.1	-	10.5	-	35.7	46.3±2.8
Polydextrose	-	89.8	-	-	0.3	1.9	36.5	38.7±2.6
Pyrodextrin	Matsutani, Japan	94.3	-	-	-	0.2	18.8	20.0±0.5
Raftiline	Orafti, Belgium	93.3	-	0.1	34.7	0.8	50.2	85.8±3.4
Soybean oligosaccharide	Calpis, Japan	76.5	-	0.1	7.5	8.4	15.6	32.3±3.9
Xylooligosaccharide	Suntory, Japan	94.9	0.8	25.9	0.6	-	1.6	29.4±1.3

[a] Recovery of fructose was measured as mannose (Man) and glucose (Glc). Ara, arabinose; Xyl, xylose; Gal, galactose

Source: Holzapfel and Schillinger (2002)

4.2.1.2 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides, GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบ โดยมีโครงสร้างคือ α-D-Glu-(1-4)-[β-D- Gal-(1-6)-]$_n$ โดย n = 2-5 พบได้ในนมของมนุษย์และนมวัว และสังเคราะห์ได้จากน้ำตาลแลคโตส โดยใช้เอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดส (β-galactosidase) ซึ่งกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ สามารถเคลื่อนที่ไปถึงลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ได้ผลผลิตจากการหมักเป็นกรดไขมันสายสั้น เช่น อะซิเตท โพรพิโอเนท บิวไทเรท และก๊าซ เช่น ไฮโดรเจน มีเทน และคาร์บอนไดออกไซด์ กรดไขมันสายสั้นดังกล่าวมีบทบาทในการปรับปรุงสภาพแวดล้อมภายในลำไส้ใหญ่ เป็นแหล่งพลังงานให้แก่อีพิทิเลียมในลำไส้ใหญ่ เพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียม ป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยการไปลดระดับพีเอชในลำไส้ใหญ่ ควบคุมเอนไซม์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการสร้างสารพิษและสารก่อมะเร็งที่แบคทีเรียสร้างขึ้น เช่น β-glucoronidase และ nitroreductase ลดจำนวนสารประกอบที่เป็นอันตรายต่างๆ เช่น แอมโมเนีย อินโดล ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นให้มะเร็งลุกลามยิ่งขึ้น (Sako, 1999; Kolida *et al*., 2000; Gibson, 2004)

จุลินทรีย์พวกที่จะสามารถใช้ประโยชน์จากกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ คือ bifidobacteria และจะเห็นผลจากแบคทีเรียดังกล่าวได้ก็ต่อเมื่อรับประทานทุกวันปริมาณมากกว่า 2.5 กรัม แต่ทว่าถ้าต้องการเห็นผลต่อความถี่ในการถ่ายอุจจาระก็ต้องรับประทานอย่างน้อยที่สุด 5 กรัมต่อวัน Ito (1990) ได้ศึกษาผลของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อจุลินทรีย์ในอุจจาระของอาสาสมัครเพศชายจำนวน 12 คน โดยให้บริโภคในปริมาณ 10 กรัมต่อวัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด, bacteroides, *Enterobacteriaceae* และ enterococci ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณของ bifidobacteria และ lactobacilli เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Kolida *et al*., 2000)

4.2.1.3 ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์ (Soybean oligosaccharides, SOS)

ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลืองซึ่งโอลิโก-แซคคาไรด์หลัก คือ ราฟฟิโนส (raffinose) และสทาคิโอส (stachyose) (Gibson, 2004) โดยมีโครงสร้างคือ $[\alpha\text{-D-Gal-(1-6)}]_n$- α-D-Glu-(1-2)-β-D-Fru โดย n=1 หรือ 2 สามารถทนต่อการย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ Benno (1987) ได้ทำการทดลองโดยให้ผู้ใหญ่จำนวน 7 คน รับประทานราฟฟิโนส 15 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าจำนวนของ bifidobacteria เพิ่มขึ้นและสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ *Bacteroides* spp. และ *Clostridium* spp. ลงได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดนั้นยังคงที่ (Kolida *et al*., 2000) จากการศึกษาของ Hayakawa และคณะ (1990) พบว่าเมื่อให้อาสาสมัคร 6 คน รับประทานซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ สามารถช่วยเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria และ lactobacilli และลดจำนวนของ clostridia และ peptostreptococci ในอุจจาระได้อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ Wada และคณะ (1992) ได้ให้อาสาสมัคร 7 คน รับประทานซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์ 10.6 กรัมต่อวัน เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าช่วยเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria ได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่สามารถลดจำนวนของ *Bacteroides* spp. ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกเหนือจากนี้คือช่วยลดปริมาณแอมโมเนีย และ β-glucosidase ในอุจจาระได้ และช่วยลดสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น ได้แก่ อินโดล สคาทอล (skatole) ฟีนอล และพาราครีซอล (p-cresol) (Tuohy *et al*. 2005)

4.2.2 โอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการสังเคราะห์

4.2.2.1 ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Isomaltooligosaccharides, IMO)

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะ α1-6 glucosidic linkage (Gibson, 2004) และอาจพบการเชื่อมด้วยพันธะ α1-4 ตัวอย่างเช่น ไอโซมอลโตส (isomaltose) ไอโซมอลโตไตรโอส (isomaltotriose) ไอโซมอลโตเตรทตระโอส (isomaltotetraose) และแพนโนส (panose) โดยไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์จะถูกย่อยได้ด้วย

แบคทีเรียภายในปากในกลุ่มของ *St. mutans* (Tsunesiro *et al*., 1997) นอกจากนี้ยังสามารถถูกย่อยได้บางส่วนด้วยเอนไซม์ไอโซมอลเตส (isomaltase) ในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) ของคน และโอลิโกแซคคาไรด์ส่วนที่เหลือก็จะถูกหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ Kaneko และคณะ (1994) ศึกษาการหมักของ IMO ในลำไส้มนุษย์ พบว่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (DP) มีผลต่อการเจริญของ bifidobacteria (Kolida *et al*., 2000) จากการศึกษาในแบบจำลองลำไส้แบบต่อเนื่อง 3 ระยะ พบว่าการหมักไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ช่วยเพิ่มจุลินทรีย์กลุ่มผลิตกรดแลคติกและยังช่วยเพิ่มปริมาณบิวไทเรทอีกด้วย (Gibson, 200)

4.2.2.2 แลคทูโลส (Lactulose)

แลคทูโลสผลิตมาจากน้ำตาลแลคโตส มีโครงสร้างคือ β-D-Gal-(1-4)-β-D-Fru แลคทูโลสไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ β-galactosidase ซึ่งต่างกันกับแลคโตส แลคทูโลสจึงไม่ถูกย่อยและดูดซึมในลำไส้เล็กแต่จะถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ คือ bifidobacteria การหมักแลคทูโลสจะได้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นอะซิเตท และแลคเตท ในเนเธอร์แลนด์แลคทูโลส ถูกนำออกมาวางขายเพื่อใช้ในการแก้ท้องผูกกลายเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ จากการศึกษาโดยให้อาสาสมัคร 8 คน รับประทานแลคทูโลส 3 กรัมต่อวัน พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria ในขณะที่จำนวนของ bacteroides และ clostridia นั้นลดลง และนอกจากนี้อินโดล สคาทอล ฟีนอล พีเอชของอุจจาระ β-glucuronidase, nitroreductase และ azoreductase ยังลดลงอีกด้วย (Hartemink, 1999; Kolida *et al*., 2000)

4.2.2.3 แลคโตซูโครส (Lactosucrose)

แลคโตซูโครสผลิตจากสารตั้งต้นที่เป็นส่วนผสมของแลคโตสและซูโครส โดยใช้เอนไซม์ β-fructofuranosidase จากเชื้อ *Arthrobacter sp.* มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria (Gibson, 2004) แลคโตซูโครสไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ภายในปากและลำไส้เล็กแต่ถูกหมักในลำไส้ใหญ่ด้วยจุลินทรีย์พวก bifidobacteria, bacteroides และ clostridia Yoneyama และคณะ (1992) ได้ให้อาสาสมัคร 6 คน รับประทานแลคโตซูโครส 2, 5 และ 10 กรัมต่อวัน พบว่าจำนวน bifidobacteria นั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในทุกระดับของแลคโตซูโครสที่ได้รับ และเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Ogata และคณะ (1993) ได้ทำการทดลองโดยให้อาสาสมัคร 8 คน รับประทานแลคโตซูโครส 1, 2 และ 3 กรัมต่อวัน พบว่าจำนวนของ bifidobacteria เพิ่มขึ้นในทุกระดับของแลคโตซูโครสที่ศึกษา ในขณะที่ *Cl. Perfringens* และแอมโมเนียในอุจจาระนั้นลดลง (Hartemink, 1999)

4.2.2.4 กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (Gluco-oligosaccharides)

กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันด้วยพันธะβ,1-6 glucosidic linkages ผลิตจากการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ glucosyl-transferase จากจุลินทรีย์ *Leuconostoc mesenteroides* โดยการย้ายโมเลกุลกลูโคสจากซูโครสซึ่งเป็นตัวให้ไปยังมอลโตสซึ่งเป็นตัวรับ โดยจะมี DP2-6 กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria และกลุ่ม bacteroides (Gibson, 2004; Hartemink, 1999)

4.2.2.5 ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharides, XOS)

ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นสายของโมเลกุลไซโลสที่ต่อกันด้วยพันธะ β1-4 ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะประกอบด้วยไซโลไบโอส (xylobiose) ไซโลไตรโอส (xylotriose) และไซโล-เตรทตระโอส (xylotetraose) (Gibson, 2004) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กและถูกหมักที่ลำไส้ใหญ่ ส่วนใหญ่แล้วจะถูกหมักโดยจุลินทรีย์พวก bifidobacteria จากการศึกษาในอาสาสมัครเพศชาย 5 คน พบว่าการรับประทานไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สามารถเพิ่มปริมาณของ bifidobacteria ในอุจจาระได้ อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงในแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ (Okazaki *et al*., 1990 อ้างโดย Hartemink, 1999)

4.3 บทบาทและประโยชน์ของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ

4.3.1 เพิ่มความต้านทานต่อโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน (acute gastroenteritis)

โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันอาจจะมีผลต่อบางคนเพียงแค่ครั้งเดียวหรืออาจจะหลายครั้ง ซึ่งโดยปกติแล้วเกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อก่อโรคหรือสารพิษของเชื้อเข้าไป ได้แก่ shigellae, salmonellae, *Yersinia enterocolitica, Campylobacter jejuni, E. coli, Vibrio cholera* และ *Clostridium perfringens* เชื้อก่อโรคอาจจะอาศัยอยู่และเจริญในทางเดินอาหาร หลังจากนั้นก็แพร่ไปยังเนื้อเยื่อของเจ้าบ้าน หรืออาจจะสร้างสารพิษลงในอาหารก่อนที่จะรับประทานอาหารนั้นเข้าไป ดังนั้นสารพิษจึงไปรบกวนการทำหน้าที่ของเยื่อบุเมือกในลำไส้ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียนและท้องร่วง (Hui *et al*., 1994 อ้างโดย Vernazza *et al*., 2006) แบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในลำไส้ของมนุษย์ ได้แก่ แบคทีเรียที่มีผลร้ายต่อเซลล์ (cytotoxic) เช่น *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคและเชื้อที่ทำให้มีเลือดออกในลำไส้ ในขณะที่เชื้อ shigellae บางชนิดสามารถผลิตสารที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่เซลล์ได้ แบคทีเรียที่สร้างสารพิษ (toxigenic) เช่น *V. cholerae* และเชื้อ shigellae บางชนิดสามารถผลิตสารพิษในลำไส้ซึ่งจะมีผลต่อการขับเกลือและน้ำของเจ้าบ้าน และสุดท้ายคือแบคทีเรียที่สามารถรวมกลุ่มกันในลำไส้ (enteroaggregative) เช่น *E. coli* ซึ่งมีความสามารถในการยึดเกาะเยื่อบุผนังลำไส้ได้อย่างแน่นหนา เชื้อแบคทีเรียก่อโรคดังกล่าวมีกลไก

ที่ทำให้ระบบทางเดินอาหารติดเชื้อ หลบเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกัน และต้านทานต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ได้ Vernazza *et al*., 2006) ทั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารและเยื่อบุเมือกทำหน้าที่เป็นตัวต่อต้านการรุกรานของเชื้อก่อโรค ซึ่ง bifidobacteria และ lactobacilli สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคอย่างเช่น *E. coli*, *Campylobacter* และ *Salmonella* spp. ได้ (Gibson and Wang, 1994) จุลินทรีย์ที่สร้างกรดได้ในระบบทางเดินอาหารมนุษย์นั้นมีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงความต้านทานของลำไส้ ซึ่งวิธีการทำงานของเชื้อดังกล่าวที่เป็นไปได้ คือ กรดที่ได้จากการเมตาบอไลท์ของจุลินทรีย์ ทำให้พีเอชในลำไส้ลดต่ำลงซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค ทำให้ความสามารถในการแข่งขันเพื่อยึดเกาะลำไส้และแย่งชิงอาหารของเชื้อก่อโรคลดลง และกรดดังกล่าวยังได้ทำลายเชื้อก่อโรคนั้นโดยตรง นอกจากนี้การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่อาจจะช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันทำให้ป้องกันเชื้อก่อโรคได้มากขึ้น (Vernazza *et al*., 2006)

4.3.2 ลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็ง

จากการศึกษาพบว่าการรับประทานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลให้ไนโตรรีดักเตส (nitroreductase) ลดลง ซึ่งไนโตรรีดักเตสเป็นตัวกระตุ้นเมทาบอลิกหรือสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenic) หรือเกิดมะเร็ง (carcinogenic) และยังลดระดับอินโดลและกรดไอโซวาเลอริก (isovaleric acid) ซึ่งถูกผลิตจากการย่อยสลายโปรตีนและการดึงหมู่เอมีนออกจากโมเลกุล (deamination) และเป็นตัวชี้บ่งถึงการเน่าสลาย (Ito *et al*., 1990) จากการทดลองในระบบจำลองของลำไส้มนุษย์เพื่อศึกษาผลของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อเอนไซม์ที่เป็นพิษพบว่า β-glucosidase, β-glucuronidase และ arylsulphatase ถูกยับยั้งอย่างสิ้นเชิงแต่ไนโตรรีดักเตสนั้นถูกกระตุ้น (McBain and Macfarlane, 2001) อย่างไรก็ตามการเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria และ lactobacilli ซึ่งทำให้ bacteroides และ clostridia นั้นอาจทำให้การผลิตเอนไซม์ที่เป็นพิษลดลง (Burns and Rowland, 2000) จากการศึกษาผลของสารพรีไบโอติกที่มีต่อจุลินทรีย์ในมนุษย์โดยได้ทำการศึกษาในหนูทดลอง (Silvi *et al*., 1999) ถึงแม้ว่า β-glucosidase เพิ่มขึ้น β-glucuronidase และระดับแอมโมเนียลดลง แต่ค่าที่ได้วัดนอกจากนี้ซึ่งสำคัญมากในการลดมะเร็งคือการมีระดับบิวไทเรทในอุจจาระสูง บิวไทเรทไม่เพียงแต่จะเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้แก่เซลล์ในลำไส้และช่วยรักษาเยื่อบุผิวให้แข็งแรงเท่านั้น มันยังมีบทบาทสำคัญในการป้องกันมะเร็งได้อีกด้วย (Topping and Clifton, 2001) บิวไทเรทมีผลต่อกระบวนการภายในเซลล์หลายอย่างโดยส่วนใหญ่จะทำปฏิกิริยากับ DNA และโปรตีนที่อยู่รอบๆ รวมถึงเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอพอพโทสิส (apoptosis) ซึ่งเป็นกระบวนการที่ช่วยลดการกระตุ้นเซลล์มะเร็ง ทำลายเซลล์มะเร็งและเพิ่มระดับของภูมิคุ้มกันต่อเซลล์มะเร็งเนื่องจากเป็นการช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของเซลล์โปรตีน (Bornet *et al*., 2002)

4.3.3 การดูดซึมแร่ธาตุ

ช่วยให้เกิดการผลิตวิตามินและเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆ ที่มีความจำเป็นต่อร่างกาย โดยการลดพีเอช จะเพิ่มการละลายของแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม ทำให้ดูดซึมแร่ธาตุได้ง่ายขึ้น (Holzapfel *et al*., 1998; Bosscher *et al*., 2003) การได้รับแคลเซียมและแมกนีเซียมสำคัญอย่างมากต่อโครงสร้างกระดูกและการเพิ่มการดูดซึมสามารถป้องกันภาวะกระดูกพรุนได้ Chonan และคณะ (2001) แสดงให้เห็นว่าการเติมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ลงในอาหารสำหรับเลี้ยงหนูสามารถเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมได้ กลไกของการเพิ่มการดูดซึมนี้ยังไม่ชัดเจนนักแต่ในกรณีนี้จุลินทรีย์ในลำไส้นั้นต้องการกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เพื่อการเจริญเติบโต ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นก็น่าจะขึ้นอยู่กับการมีหรือไม่มีจุลินทรีย์อยู่ (Vernazza *et al*., 2006) จากการทดลองในคนพบว่าการบริโภคฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 15 กรัมต่อวัน หรืออินนูลิน 40 กรัมต่อวัน ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมอย่างเห็นได้ชัด (Roberfroid, 2002) นอกจากนี้การบริโภคฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมแมกนีเซียมอีกด้วย (Bornet *et al*., 2002)

4.3.4 การควบคุมไขมัน

พรีไบโอติกมีผลต่อการควบคุมไขมันถึงแม้ว่ากลไกการควบคุมยังไม่เป็นที่ทราบกันในปัจจุบัน จากการศึกษาในหนูทดลองที่เป็นโรคเบาหวานพบว่าเมื่อให้หนูรับประทานไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharides) ที่เติมลงไปแทนที่คาร์โบไฮเดรตในอาหาร พบว่าระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและไตรกลีเซอไรด์ (serum cholesterol and triglyceride) ของหนูที่เป็นโรคเบาหวานจากที่เคยอยู่ในระดับที่สูงกลับลดลง และไตรกลีเซอไรด์ในตับได้เพิ่มขึ้นอยู่ในระดับเดียวกับหนูที่สุขภาพดี (Imaizumi *et al*., 1991 อ้างโดย Vernazza *et al*., 2006) จากการทดลองอื่นๆ พบว่าฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ก็สามารถลดไขมันในเลือดได้เช่นกัน (Roberfroid, 2002; Delzenne *et al*., 2003) การลดลงของไขมันในเลือดนี้น่าจะเป็นผลจากโพรพิโอเนต (propionate) ซึ่งเป็นกรดไขมันสายสั้นชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นจากการหมักพรีไบโอติกด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติกในลำไส้ ไปยับยั้งเอนไซม์ย่อยไขมัน (lipogenic enzymes) ในตับ

4.3.5 ช่วยลดอาการท้องผูก

การหมักพรีไบโอติกในลำไส้ใหญ่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นซึ่งจะช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระ การเพิ่มขึ้นของอุจจาระจะช่วยลดเวลาในการส่งผ่านของลำไส้ ช่วยกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ ส่งเสริมการเคลื่อนไหวของลำไส้และการเคลื่อนตัวของอุจจาระ ซึ่งไม่เพียงแต่ช่วยลดและป้องกันท้องผูกเท่านั้นแต่ยังเป็นการลดผลกระทบจากจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารที่เป็นอันตราย เช่น สารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นพิษ ก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) และสารประกอบที่ก่อให้เกิดมะเร็งหรือเป็นพิษ (Holzapfel *et al*., 1998; Gibson, 2004)

5. โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้านโดยจะปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ให้ดีขึ้น คำว่าโพรไบโอติกสร้างขึ้นครั้งแรกโดย Lilly และ Stillwell ในปี 1965 การระบุว่าเป็นโพรไบโอติกจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้ (Fuller, 1989 อ้างโดย Gibson and Roberfroid, 1995)

1. โพรไบโอติกจะต้องสามารถเตรียมด้วยวิธีการที่ทำให้มันยังมีชีวิตอยู่และในปริมาณมากได้

2. ในระหว่างการใช้ และการเก็บรักษา โพรไบโอติกจะต้องยังมีชีวิตอยู่และมีเสถียรภาพ

3. จะต้องอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมของลำไส้

4. เจ้าบ้านจะต้องได้รับประโยชน์จากอาศัยของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกสายพันธุ์ที่เป็นที่นิยมประกอบด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* และ *Enterococcus* ตัวอย่างสายพันธุ์ของแต่ละกลุ่ม เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcus faecalis* และ *Enterococcus faecium* (Kaur *et al*., 2002) โพรไบโอติกที่มีขายในท้องตลาดจะอยู่ในรูปแบบสินค้าอาหารหมักและทำแห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized form) ซึ่งใช้เพื่อเป็นอาหารเสริมและนำไปใช้ในทางเภสัชกรรม (Figure 2) แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาใช้กันโดยส่วนใหญ่ คือ lactobacilli และ bifidobacteria สามารถนำโพรไบโอติกไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแก่ผู้บริโภคได้มากมาย เช่น อยู่ในรูปผง เม็ด เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์นมหมัก (Holzapfel , 2006; Vernazza *et al*., 2006) ผลิตภัณฑ์ประเภทนมหมักส่วนใหญ่จะผลิตด้วยเชื้อ *L. acidophilus, L. crispatus, L. johnsonii, L. casei, L. paracasei* และ *Bifidobacterium* spp. นอกจากนี้ยังมีโพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ อีกมากมายที่นำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารดังแสดงใน Table 7 (Holzapfel and Schillinger, 2002) ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ไม่ก่อโรค ไม่เป็นพิษ มีชีวิตอยู่เป็นเวลานาน และสามารถมีชีวิตรอดผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กไปสู่ลำไส้ใหญ่ได้ดี (Sandholm *et al*., 2002)

จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่หมักสารที่ไม่สามารถย่อยโดยลำไส้เล็กของเจ้าบ้านได้ ซึ่งสารดังกล่าวประกอบด้วยแป้งที่ทนต่อการย่อย (resistant starch) คาร์โบไฮเดรทที่ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible carbohydrates) โอลิโกแซคคาไรด์ โปรตีน และสารเมือก (mucins) กระบวนการหมักในลำไส้ใหญ่มี 2 แบบ คือ แซคคาโรไลติค (saccharolytic) ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรท และโพรทิโอไลติค (proteolytic) ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มโปรตีน การ

หมักแบบแซคคาโรไลติคจะเกิดมากว่าแบบโพรทิโอไลติค ผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักแบบแซคคาโรไลติคคือกรดไขมันสายสั้น กรดส่วนใหญ่ที่ได้ คือ อะซิเทท โพรพิโอเนท และบิวไทเรท ซึ่งอะซิเททจะถูกนำไปใช้ในกล้ามเนื้อ ในขณะที่โพรพิโอเนทจะถูกขนส่งไปยังตับและใช้ในการสังเคราะห์ ATP ส่วนบิวไทเรทนั้นเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้แก่เซลล์ในลำไส้และมีคุณสมบัติเป็นตัวต่อต้านเนื้องอก ในทางตรงกันข้ามผลผลิตจากการหมักแบบโพรทิโอไลติคจะเป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น สารประกอบฟีนอลิก เอมีน และแอมโมเนีย ซึ่งสารบางตัวเป็นสารก่อมะเร็ง (Gibson, 2004)

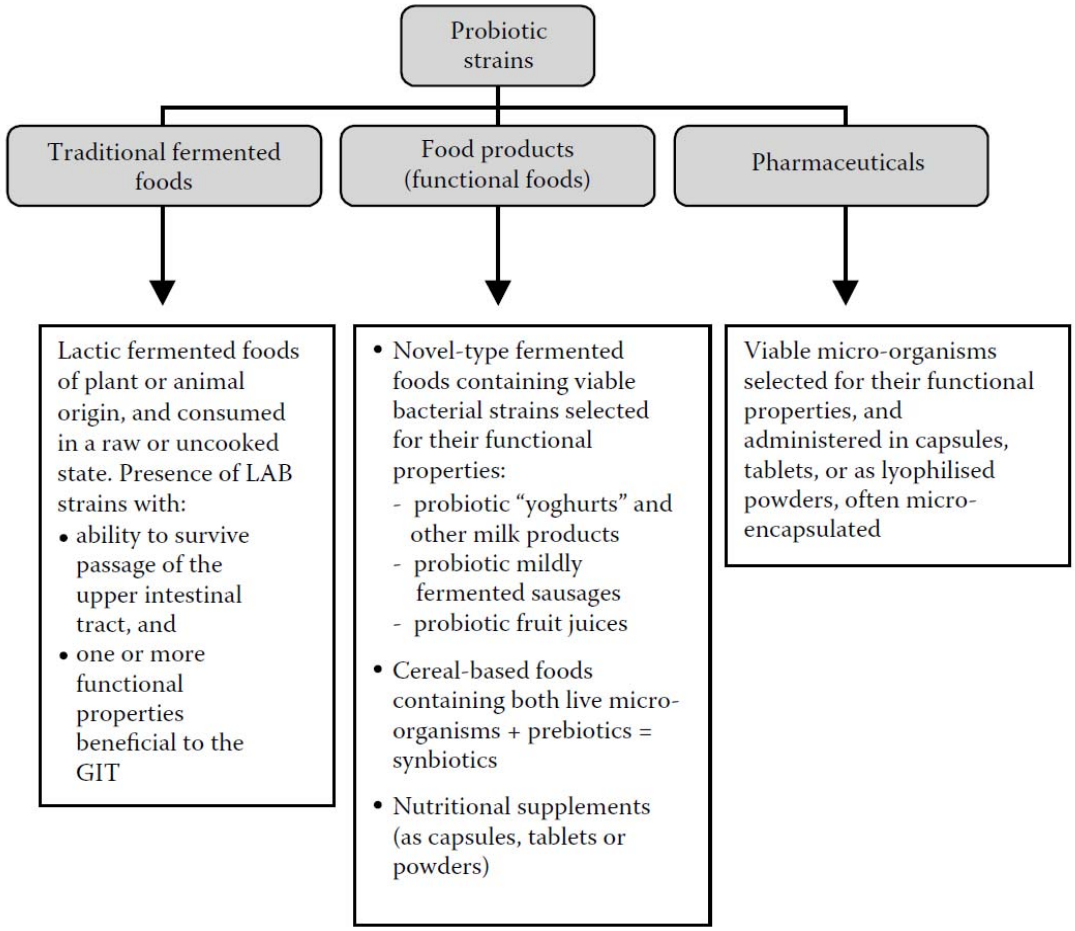


Figure 2. Administration of probiotics in different forms

Source: Holzapfel (2006)

Table 7. Microbial species from which strains find application in probiotic products

Lactobacillus species	*Bifidobacterium* species	Other LAB	"Non-lactics" [a]
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Ent. faecalis* [b]	*Bacillus cereus* (toyoi ≅) [b]
L. amylovorus	*B. animalis*	*Ent. faecium*	*Escherichia coli* (Nissle, 1917 ≅)
(*L. casei*)	*B. bifidum*	*Sporolactobacillus*	*Propionibacterium freudenreichii* [b]
L. crispatus	*B. breve*	*Inulinus* [b]	*Saccharomyces cerevisiae* (boulardii ≅)
L. gallinarum [b]	*B. infantis*		
L. gasseri	*B. lactis* [c]		
L. johnsonii	*B. longum*		
L. paracasei			
L. plantarum			
L. reuteri			
L. rhamnosus			

[a] Mainly as pharmaceutical preparations.

[b] Mainly applied for animals.

[c] Probably synonymous with B. animalis.

Source: Holzapfel and Schillinger (2002)

ลำไส้ใหญ่เป็นบริเวณที่มีประชากรแบคทีเรียหนาแน่นที่สุดของทางเดินอาหาร และมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ประมาณ 500 ชนิด ดังนั้นจึงมีแบคทีเรียอยู่จำนวนมาก แบคทีเรียแต่ละชนิดในลำไส้ใหญ่มีปฏิกิริยาต่อกันอย่างหลากหลาย เช่น ตำแหน่งในการเมทาบอไลท์ ถิ่นที่อยู่อาศัย และการแลกเปลี่ยนอาหารกันระหว่างแบคทีเรียแต่ละชนิด การหมักในลำไส้ใหญ่โดยส่วนใหญ่จะเป็นการหมักแบบแซคคาโรไลติคเพราะสิ่งที่ผ่านมายังลำไส้ใหญ่และถูกหมักนั้นส่วนใหญ่จะเป็นคาร์โบไฮเดรต เมื่อสิ่งที่ถูกย่อยทั้งหมดเคลื่อนที่ไปยังลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย คาร์โบไฮเดรตที่จะใช้หมักได้มีจำนวนลดลง โปรตีนและกรดอะมิโนจึงเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย (Gibson, 2004) จำนวนจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารแต่ละส่วนนั้นมีปริมาณที่แตกต่างกัน (Table 8) ในหลอดอาหารมี 10^{1}-10^{3} CFU ต่อมิลลิลิตร (หรือกรัม) ในกระเพาะอาหารมี 10^{7} CFU ต่อมิลลิลิตร ในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) มี 10^{7} CFU ต่อมิลลิลิตร ส่วนใหญ่จะเป็น lactobacilli, *Enterobacteriaceae* และ streptococci ในบริเวณปลายของลำไส้เล็กส่วนปลาย (terminal ileum) มีจำนวนมากกว่า 10^{9} CFU ต่อกรัม ในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายมี 5×10^{11} CFU ต่อกรัม *Bacteroides* และแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ต้องการอากาศพวก *Eubacterium* และ

Bifidobacterium มีจำนวนหนาแน่นและมีอิทธิพลอย่างมากในลำไส้ใหญ่ ส่วนกลุ่มอื่นๆ เช่น clostridia, peptostreptococci, streptococci และ lactobacilli นั้นก็มีบทบาทสำคัญด้วยเช่นกัน เช่น ช่วยรักษาเสถียรภาพของเยื่อเมือกในลำไส้และผลิตกรดไขมันสายสั้น ในลำไส้เล็ก lactobacilli นับว่ามีบทบาทสำคัญมากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆ เนื่องจากมีจำนวนที่มากกว่าในคนที่มีสุขภาพดี โดยปกติแล้วจะมีจำนวน lactobacilli ในช่องปาก 10^3-10^4 CFU ต่อกรัม ในลำไส้เล็กส่วนปลาย 10^3-10^7 CFU ต่อกรัม และในลำไส้ใหญ่ 10^4-10^8 CFU ต่อกรัม นอกจากนี้ lactobacilli ยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในช่องคลอดอีกด้วย (Holzapfel, 2006)

โพรไบโอติกนั้นมีประโยชน์มากมาย เช่น ประโยชน์ด้านโภชนาการ การผลิตวิตามิน การผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารที่สำคัญ คือ β-galactosidase ป้องกันและลดโรคท้องร่วงที่เกิดจากการติดเชื้อ เช่น โรคท้องร่วงในนักท่องเที่ยว โรคท้องร่วงอย่างรุนแรงที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสในเด็ก ช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือด กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ทำให้ลดอาการท้องผูก และเพิ่มความต้านทานของลำไส้ ช่วยเสริมผลของวัคซีน ช่วยลดเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดมะเร็ง ลดการแพ้แลคโตสในนมวัว (Holzapfel *et al*., 1998; Kaur *et al*., 2002) เนื่องจากโพรไบโอติกมีประโยชน์อย่างมากมายต่อร่างกายจึงมีความพยายามที่จะนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตเติมลงไปในอาหารต่างๆ เพื่อปรับเปลี่ยนโครงสร้างและกิจกรรมเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ เพื่อต้องการให้เกิดประโยชน์ดังกล่าว (Gibson, 2004)

5.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกที่ดี

1. สามารถสร้างกรดแลกติก ทำให้กระเพาะอาหารเป็นกรดมากขึ้นทำให้เกิดการย่อยและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่างๆ ได้ดีขึ้น และปรับสภาพของทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก (Isolauri, 2004)

2. สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหารได้ดี โพรไบโอติกจะต้องมีคุณสมบัติในการทนต่อพีเอชที่ต่ำเพราะในกระเพาะอาหารมีค่าพีเอช 2 แต่หลังจากการรับประทานอาหารเข้าไปแล้ว 2-4 ชั่วโมง พีเอชจะเพิ่มเป็น 3 *Lactobacillus acidophilus* สามารถทนต่อกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์อื่นๆ โดยที่ *Lactobacillus gasseri* สามารถรอดชีวิตได้มากที่พีเอช 3, 2 และ 1.5 ตามลำดับ *Lactobacillus sake* (RM 10) และ *Pediococcus acidilactici* (P2) สามารถมีชีวิตรอดได้สูงที่สุดที่พีเอช 3 (Erkkila and Petaja, 2000)

3. ทนต่อเกลือน้ำดี (bile salt) ในลำไส้เล็กซึ่งสร้างจากตับเก็บไว้ในถุงน้ำดีและจะปล่อยออกมาในลำไส้เล็กเพื่อใช้ย่อยอาหารพวกไขมัน ซึ่งเกลือน้ำดีจะช่วยขับสารตกค้างในร่างกาย เช่น ยา หรือแร่ธาตุบางชนิด พบว่าโพรไบโอติกสามารถทนต่อเกลือน้ำดีได้ร้อยละ 0.3

4. เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้านที่ได้รับโพรไบโอติก เช่น เพิ่มการเจริญเติบโต หรือต้านทานการเกิดโรค และไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค

5. เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและเพิ่มจำนวนได้มาก สามารถมีชีวิตอยู่รอดและทำงานได้ในลำไส้ใหญ่

6. ปรับตัวในสภาพแวดล้อมต่างๆ ได้ดี ทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถแข่งขันและเจริญเติบโตได้ มีความคงทนและสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพการเก็บรักษาและในขณะทำการทดลอง

7. มีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตรวดเร็ว คือใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนน้อยและมีความสามารถในการมีชีวิตอยู่ได้ในลำไส้สัตว์ ช่วยย่อยสลายกากอาหารแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโน กรดไขมัน และวิตามิน

8. ต้องไม่มีคุณสมบัติในการก่อการกลายพันธุ์ (mutagenic) ก่อมะเร็ง (carcinogenic) เป็นพิษ (toxic) และก่อโรค (pathogenic) สามารถสร้างแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ได้ (Ziemer and Gibson, 1998)

Table 8. Estimated numbers (per ml or g of intestinal contents) and suggested role (postulated effects) of major microbial population groups in different segments of the gastrointestinal tract

Microbial group	Stomach 10^1-10^3 CFU/ml	Duodenum 10^1-10^4 CFU/ml	Jejunum+Ileum 10^5-10^8 CFU/g	Colon 10^9-5×10^{11} CFU/g	Positive effects	Negative effects
Actinomyces spp.			10^4-10^6		?	
Bacteroides-Prevotella-Porphyromonas Group	up to 10^2	ca. 10^3	10^4-10^7	10^9-10^{11}		+
Bifidobacterium spp.				10^9-10^{10}	+	
Clostridium spp.			10^4-10^5	10^8-10^9	(+)	+
Coprococcus cutactus				10^7-10^8		
Enterobacteriaceae	up to 10^2	10^2-10^4	10^3-10^6	10^5-10^7	(+)	(+)
Enterococcus spp.			10^2-10^4	10^3-10^6		
Eubacterium spp.				10^9-10^{10}	+	
Fusobacterium spp.			10^3-10^5	10^5-10^7		

Source: Holzapfel (2006)

Table 8. (Continued)

Microbial group	Stomach 10^1-10^3 CFU/ml	Duodenum 10^1-10^4 CFU/ml	Jejunum+Ileum 10^5-10^8 CFU/g	Colon 10^9-5×10^{11} CFU/g	Positive effects	Negative effects
Lactobacillus spp.	10^1-10^3	10^2-10^4	10^4-10^6	10^5-10^8	+	
Megamonas hypermegas				10^7-10^8		
Megasphaera elsdenii				10^7-10^8		
Methanobacteria				up to 10^9	(+)	(+)
Peptostreptococcus spp.			10^2-10^6	10^8-10^9	(+)	(+)
Proteus spp.				10^3-10^6		
Pseudomonas spp.				$>10^3$		
Staphylococcil				ca. 10^3		
Streptococcus spp.	10^1-10^3		10^3-10^8	up to 10^7		
Veillonella spp.			10^3-10^7	10^5-10^8		+
Yeasts				ca. 10^3		+

5.2 ประโยชน์ของโพรไบโอติกต่อร่างกาย

5.2.1 ยับยั้งเชื้อก่อโรคในทางเดินอาหาร

การที่โพรไบโอติกช่วยให้ลำไส้มีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคที่ล่วงล้ำเข้ามา นั่นก็หมายถึงการป้องกันโรคที่จะเกิดขึ้นจากเชื้อก่อโรคด้วยเช่นกัน (Macfarlane and Mcbain, 1999) จุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตกรดสามารถผลิตกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก และกรดอิซิติก ทำให้พีเอชของสิ่งแวดล้อมเป็นกรดซึ่งเชื้อก่อโรคจะไม่สามารถแข่งขันได้ และถูกแย่งชิงอาหารโดยจุลินทรีย์พวกโพรไบโอติก อย่างไรก็ตามยังมีอีกหลายกลไกที่ทำให้โพรไบโอติกสามารถต้านทานต่อเชื้อก่อโรคได้ เช่น การผลิต antimicrobial peptides (Vernazza *et al*., 2006) นอกจากนี้แบคทีเรียโพรไบโอติกจะยึดเกาะที่เซลล์ของลำไส้ดังนั้นจึงเป็นการขัดขวางการจับเยื่อบุเมือกลำไส้ของเชื้อก่อโรคที่อยู่ในลำไส้พร้อมทั้งผลิตสารที่ยับยั้งเชื้อก่อโรค เช่น แบคทีริโอซิน (bacteriocins) กรดแลคติก และ toxic oxygen metabolites (Figure 3) (Kaur *et al*., 2002) Payne และคณะ (2003) พบว่าการเพิ่ม *Lactobacillus plantarum* เข้าไปในแบบจำลองของลำไส้ ทำให้การต้านทานต่อ *Candida albicans* เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจจะเนื่องจาก lactobacilli ที่เติมลงไปทำให้ความต้านทานของลำไส้กลับสู่สภาพเดิมและทำให้เชื้อก่อโรคดังกล่าวลดลง ได้มีการใช้โพรไบโอติกเพื่อรักษาโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงในเด็ก ที่เกิดจากการติดเชื้อ rotavirus ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญทั่วโลก โพรไบโอติกที่นำมารักษา เช่น *Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. casei* subsp. Shirota และ *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ซึ่งจะช่วยให้อาการของโรคน้อยลง (Vernazza *et al*., 2006)

5.2.2 กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค

โพรไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ จุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ที่มีอยู่โดยปกตินั้นไม่ก่อให้เกิดอันตราย แต่อย่างไรก็ตามการมีแบคทีเรียแกรมบวกจากภายนอกเข้ามาจะทำให้มีการหลั่ง cytokines ของ pro- หรือ anti-inflammatory ออกมาโดยธรรมชาติซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ (Cross, 2002) pro-inflammatory cytokines ประกอบด้วย TNFα , IL-12 , และ IFN-γ ซึ่งจะกระตุ้นการเคลื่อนที่ของเซลล์ภูมิคุ้มกัน ปฏิกิริยาชนิดนี้อาจจะเป็นประโยชน์ในกรณีของการเป็นมะเร็งซึ่งการตอบสนองภูมิคุ้มกันจะช่วยทำลายเซลล์มะเร็ง ส่วนการหลั่ง anti-inflammatory cytokinese เช่น IL-10 ซึ่งจะยับยั้งการผลิต cytokines ชนิดอื่นๆ ที่อาจจะส่งเสริมให้เกิดการอักเสบ โดยจะช่วยในกรณีของผู้ที่เป็นโรคภูมิแพ้ และโรคลำไส้อักเสบ (Vernazza *et al*., 2006) นอกจากนี้โพรไบโอติกยังช่วยเพิ่มระดับ IgA ซึ่งจะช่วยลดจำนวนของเชื้อก่อโรค เช่น *Salmonella typhi* Ty21a (Holzapfel , 2006) เนื่องจากโพรไบโอติกทำให้ร่างกายมีความต้านทานเพิ่มมากขึ้นในอนาคตแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถนำไปใช้เป็นเวกเตอร์ โดยใช้ระบุว่ามีภาวะขาดโพรไบโอติกหรือไม่เหมือนอย่างเช่น วิตามิน หรืออินซูลิน หรือการดัดแปลงทาง

พันธุกรรมเพื่อนำมาใช้เป็นวัคซีนชนิดรับประทานเหมือนอย่างเช่น แอนติเจนที่ได้จากไวรัส (viral antigens) (Gorbach, 2002) การได้รับวัคซีนของเยื่อเมือกจาก lactobacilli อาจจะช่วยหยุดการแพร่กระจายของ Human immunodeficiency Virus (HIV) และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์โรคอื่นๆ ได้ เพราะว่าจากการวิจัยแสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยที่เป็นโรคดังกล่าวมีจำนวนประชากรของ lactobacilli น้อยมาก (Alvarez-Olmos and Oberhelman, 2001)

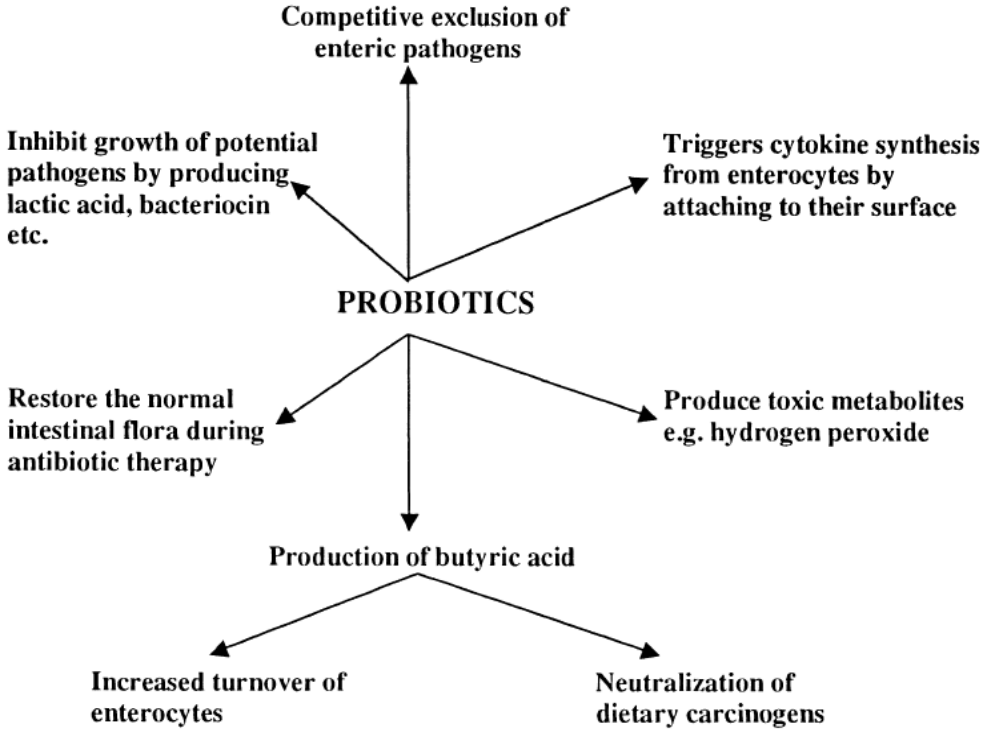


Figure 3. Purported mechanisms of action of probiotics

Source: Kaur *et al*. (2002)

5.2.3 ลดระดับคอเลสเตอรอล และลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน

โพรไบโอติกนั้นสามารถลดระดับบคอเลสเตอรอลให้ต่ำลงได้ กลไกของมันยังไม่แน่ชัดซึ่งได้มีการเสนอสมมุติฐานที่แตกต่างกันไว้มากมาย Pereira และ Gibson (2002) เสนอกลไกที่เป็นไปได้ไว้ 4 กลไก คือ การผลิตโพรพิโอเนท การย่อยและดูดซึมคอเลสเตอรอลโดยแบคทีเรีย การจับคอเลสเตอรอลไว้กับผนังเซลล์แบคทีเรีย และการทำลายด้วยเอนไซม์ จากการทดลองของ Pereira และคณะ (2003) พบว่า *Lactobacillus fermentum* ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลได้ ซึ่งน่าจะเป็นเพราะมีโพรพิโอเนทและกรดน้ำดีในปริมาณมาก (Vernazza *et al*., 2006) และจากการศึกษาในคนเพื่อดูผลของโพรไบโอติกต่อระดับคอเลสเตอรอลและความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ

พบว่า *Lactobacillus plantarum* นั้นช่วยลดความดันโลหิต ไฟบริโนเจน (fibrinogen) และแอลดีแอลคอเลสเตอรอล และช่วยเพิ่มเอชดีแอลคอเลสเตอรอล (Naruszewicz *et al*., 2002)

5.2.4 ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง

มะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นสาเหตุการตายที่สำคัญของชาวตะวันตก ถึงแม้ว่าพันธุกรรมจะเป็นปัจจัยหนึ่ง แต่อาหารก็มีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดโรคนี้ด้วยเช่นกัน เนื้อสัตว์สามารถเปลี่ยนไปเป็น heterocyclic amines ในระหว่างการปรุง และการหมักโปรตีนของแบคทีเรียจะผลิตเอมีนและแอมโมเนียซึ่งเป็นพิษ การบริโภคผักสามารถช่วยต่อต้านมะเร็งลำไส้และไส้ตรงได้ เนื่องจากมีสารประกอบพวกฟลาโวล (flavols) ไลโคพีน (lycopenes) สารประกอบซัลเฟอร์ ไอโซฟลาโวน ลิกแนน และซาโปนิน สารประกอบเหล่านี้สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต่อต้านอนุมูลอิสระ หรือขจัดสารประกอบที่เป็นพิษได้ (Vernazza *et al*., 2006) เอนไซม์ 2 ชนิดที่สามารถผลิตสารก่อมะเร็ง คือ β-glucuronidase ซึ่งมีในร่างกายมนุษย์และจุลินทรีย์ และ β-glucosidase ซึ่งมีในจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม β-glucosidase นั้นยังเป็นตัวกระตุ้นให้ผลิตสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagenic) ด้วยเช่นกัน แบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดแลคติก สามารถลดระดับเอนไซม์ทั้งสองชนิดในอุจจาระได้ (Burns and Rowland, 2000)

5.2.5 ช่วยย่อยแลคโตส

สำหรับผู้ที่มีความบกพร่องในการย่อยแลคโตสในนมวัว เนื่องจากขาดเอนไซม์ β-galactosidase หรืออาจจะมีเอนไซม์ชนิดนี้อยู่น้อยนั้น การรับประทานผลิตภัณฑ์นมหมักอย่างเช่นโยเกิร์ตจะช่วยให้การย่อยแลคโตสดีขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มผลิตกรดที่อยู่ในนมหมักอาจจะมีเอนไซม์ชนิดนี้ เมื่อแบคทีเรียสลายตัวในลำไส้เล็กเอนไซม์ β-galactosidase อาจจะถูกปลดปล่อยออกมาและช่วยส่งเสริมการย่อยแลคโตส (Ouwehand *et al*., 2002; Holzapfel, 2006)

5.2.6 การรักษาโรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory Bowel Disease)

โพรไบโอติกสามารถรักษาโรคให้แก่ผู้ป่วยที่เป็นโรคลำไส้อักเสบได้ จากการศึกษาในคนไข้แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกมีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการและป้องกันการอักเสบหลังการผ่าตัด (pouchitis) ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (ileoanal) ช่วยลดแผลในลำไส้ใหญ่และรักษาโรคลำไส้เล็กอักเสบ ซึ่งโพรไบโอติกที่ใช้ในการรักษาดังกล่าว คือ *Escherichia coli* Nissle 1917, *Saccharomyces boulardii* และจุลินทรีย์ที่ถูกเรียกว่า VSL#3 ซึ่งเป็นส่วนผสมที่ประกอบด้วย lactobacilli สี่ชนิด bifidobacteria สามชนิด และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* หนึ่งชนิด (Holzapfel, 2006)

5.2.7 ลดการติดเชื้อในทางเดินหายใจ

จากการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโยเกิร์ตที่มี *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Bifidobacterium* species 420 และ *Lactobacillus acidophilus* 145 สามารถลดแบคทีเรียก่อโรคในจมูกได้อย่างมีนัยสำคัญ Hatakka และคณะ (2001) ได้ศึกษาในระยะยาวในเด็กชาวฟินแลนด์จำนวน 571 คน ที่อยู่ในศูนย์รับเลี้ยงเด็ก หลังจากที่ให้เด็กรับประทานนมที่มี *Lactobacillus rhamnosus* GG เป็นเวลา 7 สัปดาห์ พบว่าช่วยลดการติดเชื้อในทางเดินหายใจและลดการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ (Holzapfel, 2006)

6. ซินไบโอติก

ซินไบโอติก (synbiotics) คือ ส่วนผสมของพรีไบโอติกและโพรไบโอติกซึ่งมีประโยชน์ต่อเจ้าบ้านซึ่งจะช่วยเพิ่มการอยู่รอดและเพิ่มอาหารให้แก่จุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร กระตุ้นการเจริญเติบโตและเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเท่านั้น ดังนั้นจึงทำให้เจ้าบ้านมีสุขภาพดีขึ้น (Gibson and Roberfroid, 1995) การรวมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกเข้าด้วยกันนี้เพื่อต้องการเพิ่มหรือเสริมผลของมัน การเติมพรีไบโอติกลงไปช่วยเพิ่มการอยู่รอดของโพรไบโอติกและเพิ่มอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สำหรับผู้บริโภค ทำให้บริโภคเซลล์ที่มีชีวิตเพิ่มมากขึ้น (Shin *et al*., 2000) จากการศึกษาในลูกหมูพบว่าเมื่อให้ลูกหมูได้รับฟรุกโตโอลิโกแซค-คาไรด์พร้อมกับโพรไบโอติก *Lactobacillus paracasei* สามารถเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria และ lactobacilli ได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการได้รับโพรไบโอติกเพียงอย่างเดียว (Bomba *et al*., 2002) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาในหนูทดลองโดยหนูที่ได้รับส่วนผสมของฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นและสายยาว สามารถลดจำนวนของเนื้องอกและมะเร็งชนิดร้ายได้ ในขณะที่ส่วนผสมของ *Lactobacillus reuteri* GG และ *Bifidobacterium lactis* Bb12 นั้นมีผลแค่ลดจำนวนของเนื้องอกชนิดร้ายเท่านั้น (Fermia *et al*., 2002)

อุตสาหกรรมอาหารในยุโยปตะวันออกได้มีการสำรวจถึงโอกาสทางการค้า และเพิ่มการผลิตสินค้าบริโภคที่มีการเสริมจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายหรือโพรไบโอติกและพรีไบโอติกลงไปในอาหาร นอกจากนี้ยังมีการใช้โพรไบโอติกและพรีไบโอติกร่วมกันหรือที่เรียกว่าซินไบโอติกในผลิตภัณฑ์ใหม่เพิ่มมากขึ้น ได้มีการนำพรีไบโอติกและโพรไบโอติกไปประยุกต์ใช้ในอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม ขนมหวาน ขนมปัง อาหารเช้าธัญพืช อาหารสำหรับทารก เนยแข็ง ไส้กรอก ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารชนิดแคปซูลและเม็ด โดยมีเป้าหมายเกี่ยวกับสุขภาพเพื่อปรับปรุงระบบทางเดินอาหาร ลดระดับคอเลสเตอรอล และเพิ่มความต้านทานให้แก่ร่างกาย (Young, 2006; Chan *et al*., 2000)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อสร้างแนวความคิดผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ
2. เพื่อศึกษาสัดส่วนของพรีไบโอติกแต่ละชนิดที่เหมาะสมในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก
3. เพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่ได้พัฒนาขึ้น

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุ

1. เมล็ดถั่วเหลืองแห้ง พันธุ์เชียงใหม่ 60 จากศูนย์วิจัยพืชไร่เชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร จังหวัดเชียงใหม่

2. ส่วนผสมและสารเติมแต่งอาหาร ประกอบด้วย น้ำตาลทรายขาวตรามิตรผล (บริษัทรวมเกษตรกรอุตสาหกรรม จำกัด จังหวัดชัยภูมิ ประเทศไทย) เกลือป่นตราปรุงทิพย์ (บริษัทอุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย) ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ($Ca_3(PO_4)_2$) โพแทสเซียมซิเตรต ($C_6H_5K_3O_7 \cdot H_2O$) (บริษัท ยูเนี่ยนเคมีเคิล 1986 จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย) แคปป้า-คาราจีแนน (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, Missouri, USA)

3. โซเดียมไบคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) (บริษัท ยูเนี่ยนเคมิเคิล 1986จำกัด กรุงเทพฯ ประเทศไทย)

4. พรีไบโอติก

4.1 อินนูลิน (Frutafit® HD ความบริสุทธิ์ ร้อยละ 90, Sensus, Roosendaal, The Netherlands) มีค่าดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (degrees of polymerization, DP) เฉลี่ย 8-13

4.2 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligomate 55 ความบริสุทธิ์ ร้อยละ 55, Yakult Pharmaceutical Ind. Co., Ltd., Minatoku, Japan) มีค่า DP เฉลี่ย 2

4.3 ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Biotose 50 ความบริสุทธิ์ ร้อยละ 50, Nihon Shokuhin Kako Co., Ltd. Tokyo, Japan) มีค่า DP เฉลี่ย 2-3 โดยประกอบด้วย DP1 (glucose) ร้อยละ 40, DP2 ร้อยละ 26, DP3 ร้อยละ 16, DP4 ร้อยละ 6, DP5 ร้อยละ 5, DP6 ร้อยละ 2 และ DP8 ร้อยละ 5

5. สารเคมีเกรดวิเคราะห์สำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

ชื่อสารเคมี	**บริษัทผู้ผลิต/เกรด/ประเทศ**
1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)	LabScan Asia/Analytical/Thailand
2. คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)	Ajex Finechem/Analytical/Australia
3. โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)	Ajex Finechem/Analytical/Australia
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merck/ Analytical/ Germany
5. กรดบอริก (H_3BO_3)	Merck/ Analytical/ Germany
6. กรดเกลือ (HCl)	Merck/ Analytical/ Germany
7. เอทานอล (CH_3CH_2OH)	Merck/ Analytical/ Germany
8. ปิโตรเลียมอีเทอร์	J. T. Baker/Analytical/USA

6. จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ทดสอบการเสริมการเจริญ

6.1 *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (MIRCEN))

6.2 *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (MIRCEN))

6.3 *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (DSMZ), Braunschweig, Germany)

7. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชื่อสารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	**บริษัทผู้ผลิต/เกรด/ประเทศ**
1. De Man Rogosa Sharpe (MRS)	Himedia /Analytical/India
2. peptone water	Merck/Analytical/Germany
3. yeast extract	Himedia /Analytical/India
4. NaCl	Merck/Analytical/Germany
5. K_2HPO_4	Ajex Finechem/Analytical/Australia
6. KH_2PO_4	Ajex Finechem/Analytical/Australia
7. $CaCl_2.6H_2O$	Ajex Finechem/Analytical/Australia
8. $MgSO_4.7H_20$	Ajex Finechem/Analytical/Australia
9. $NaHCO_3$	Ajex Finechem/Analytical/Australia
10. Tween 80	Ajex Finechem/Analytical/Australia
11. cysteine–HC1	Fluka/Analytical/Germany

12. Bile salt	Himedia/Analytical/India
13. $C_{12}H_6NO_4Na$ (rezasurin)	Sigma/Analytical/Germany
14. D-Glucose	Ajex Finechem/Analytical/Australia
15. Plate count agar (PCA)	Merck/Analytical/Germany

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง ประกอบด้วย
   - 1.1 เครื่องปั่น (Moulinex/AY4671/La Defense/France)
   - 1.2 เทอร์โมคัปเปิล (Union/305/Kowloon/Hong Kong)
   - 1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius/BP 2100 S/Goettingen/Germany)
   - 1.4 ผ้าขาวบาง
   - 1.5 ตะแกรง 60 mesh และ 100 mesh
   - 1.6 อุปกรณ์เครื่องครัว
2. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางกายภาพ

อุปกรณ์	**ยี่ห้อ/รุ่น**	**บริษัท/เมือง/ประเทศ**
2.1 เครื่องวัดความหนืด	Brookfield viscometer/ RVDV II$^+$	Brookfield/Middleboro/Masachusetts/ USA
2.2 เครื่องวัดค่าสี	Hunter Lab/ColorFlex	Hunter Associates Laboratory/Reston/ Virginia/USA
2.3 ชุดควบคุมอุณหภูมิ	ผลิตโดยศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	

3. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี

อุปกรณ์/เครื่องมือ	**ยี่ห้อ/รุ่น**	**บริษัท/เมือง/ประเทศ**
3.1 เครื่องวัดค่าดรรชนีการหักเหของสาร (Atago Automatic Temperature Compensation refractometer)	Atago/Model ATC-1	Atago/Tokyo/Japan
3.2 เครื่อง Bench pH/mV/Temperature Meter	Eutech/CyberScan pH510	Eutech Instruments/Ayer Rajah Crescent/Singapore
3.3 ตู้อบรมร้อน	Binder/FD115	Scientific Promotion/ Camarillo/California/USA

3.4 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง	Sartorius/BP 2100 S	Data Weighing Systems/ Goettingen/Germany
3.5 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Mettler Toledo/AB204-S	Mettler Toledo/Greifensee/ Switzerland

3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน เถ้า ไขมัน และเยื่อใย

4. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

อุปกรณ์	**ยี่ห้อ/รุ่น**	**บริษัท/เมือง/ประเทศ**
4.1 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)	Memmert/BE 500	Memmert GmbH/Schwabach/Germany
4.2 ตู้ถ่ายเชื้อ (Biological-Safety Cabinet)	Hotpack/527042, 41, 62, 61 class II type A	SP Industries/Warminster/Pennsylvania/ USA
4.3 ตู้อบแรงดันไอน้ำ (Autoclave)	Tomy/SS-325	Tomy Seiko/Tokyo/Japan
4.4 Microplate reader	Biotek/Powerwave X	Biotek Instruments/Bedfordshire/UK
4.5 ไมโครปิเปต	Gilson/1000 ไมโครลิตร	Gilson/Villiers Le Bel/France
4.6 Vortex Mixer	Labnet/VX-100	Labnet/Edison/New Jersey/USA
4.7 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง	Satorius/BP2100S	Data Weighing Systems/ Elk Grove Village/Illinois/USA
4.8 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Satorius/BP 221S	Data Weighing Systems/ Elk Grove Village/Illinois/USA

5. อุปกรณ์และเครื่องมือสำหรับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

วิธีดำเนินการ

1. องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลือง

1.1 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต (A.O.A.C., 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ข1-ข5

1.2 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย ด้วยวิธี Fritted Glass Crucible Method (A.O.A.C., 2000) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (ADCET)

1.3 วิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวน ด้วยเครื่อง HPLC-UV ตามวิธีของ Simmonne และคณะ (2000) (ภาคผนวก ข9) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2. การสร้างแนวความคิดด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ (product sensory concept development)

2.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง (mocked-up)

การพิจารณาคัดเลือกสูตรนมถั่วเหลืองในขั้นต้นจากสูตรต่างๆ พบว่าสูตรนมถั่วเหลืองที่เหมาะกับกลุ่มผู้บริโภคสูงอายุ คือ สูตรนมถั่วเหลืองของ Chaiwanon (1999) ซึ่งสูตรนี้เป็นสูตรที่เสริมแคลเซียมลงไปในนมถั่วเหลืองเพื่อให้มีระดับแคลเซียมต่อ 1 หน่วยบริโภค (200 มิลลิลิตร) ใกล้เคียงกับปริมาณแคลเซียมที่มีในนมวัว เพื่อให้ผู้บริโภคสูงอายุได้รับประโยชน์จากทั้งนมถั่วเหลืองและแคลเซียม ดังนั้นผู้วิจัยจึงคัดเลือกสูตรดังกล่าวมาใช้เป็นสูตรจำลองในการศึกษาครั้งนี้ โดยเตรียมส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ดังแสดงใน Table 9 ซึ่งส่วนผสมที่แสดงในตารางได้ปรับเปลี่ยนส่วนผสมบางอย่างจากสูตรของ Chaiwanon (1999) คือ ลดปริมาณแคปป้า-คาราจีแนนจากร้อยละ 0.03 เป็นร้อยละ 0.015 เพื่อลดความข้นหนืดของนมถั่วเหลือง เนื่องจากการทดลองเตรียมนมถั่วเหลืองในขั้นต้นที่ใช้แคปป้าคาราจีแนนร้อยละ 0.03 นั้น พบว่านมถั่วเหลืองที่ได้มีความข้นหนืดมากกว่านมถั่วเหลืองทั่วไปที่จำหน่ายในท้องตลาดมาก และเติมเกลือร้อยละ 0.05 เพิ่มเข้าไปในสูตรเพื่อให้รสชาติของนมถั่วเหลืองกลมกล่อมมากยิ่งขึ้น นอกจากนั้นได้ปรับเปลี่ยนอัตราส่วนของเมล็ดถั่วเหลืองแห้งต่อน้ำ จาก 1 ต่อ 8 เป็น 1 ต่อ 7 เพื่อให้มีความเข้มข้นของเนื้อถั่วเหลืองเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากการสำรวจผู้บริโภคสูงอายุในเบื้องต้นพบว่าผู้บริโภคกลุ่มนี้ชอบรับประทานนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้น

ผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลองตามวิธีของ Chaiwanon (1999) โดยจะผลิตนมถั่วเหลืองครั้งละ 8 ลิตร ขั้นตอนการผลิต (ดังแสดงใน Figure 4) เริ่มจากการนำเมล็ดถั่วเหลืองแห้งมาล้างทำความสะอาดแล้วแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง หลังจากนั้นล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นกับน้ำอุ่น (อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส) ด้วยเครื่องปั่น โดยใช้อัตราส่วนของเมล็ดถั่วเหลืองแห้งต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 7 จากนั้นกรองผ่านผ้าขาวบาง 4 ชั้น ตะแกรงขนาด 60 เมช และ 100 เมช ตามลำดับ นำนมถั่วเหลืองดิบไปต้มให้มีอุณหภูมิ 80-85 องศาเซลเซียส เมื่อต้มนมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิดังกล่าวเป็นเวลา 10 นาที ให้เติมโพแทสเซียมซิเตรต ร้อยละ 0.3 เพื่อเป็นสารช่วยในการคงตัว (sequestering agent) แล้วคนนมถั่วเหลือง เมื่อต้มเป็นเวลา 13 นาที เติมไตรแคลเซียมฟอสเฟต ร้อยละ 0.1 และเกลือ ร้อยละ 0.05 แล้วคนนมถั่วเหลืองให้เข้ากัน เมื่อต้มเป็นเวลา 15 นาที เติมสารละลายน้ำตาลและคาราจีแนน (stabilising agent) (การเตรียมสารละลายน้ำตาลและคาราจีแนน โดยใช้น้ำตาล ร้อยละ 5 คาราจีแนน ร้อยละ 0.015 และน้ำ 20 มิลลิลิตร กวนส่วนผสมขณะให้ความร้อนจนกระทั่งส่วนผสมละลาย) จากนั้นคนนมถั่วเหลืองให้เข้ากัน เมื่อต้มเป็นเวลา 20 นาที นำนมถั่วเหลืองบรรจุลงในขวดพลาสติกทนความร้อนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ขนาด 2 ลิตร และนำนมถั่วเหลืองไปทำให้เย็นลงทันทีในอ่างน้ำแข็ง จนกระทั่งนมถั่วเหลืองมีอุณหภูมิน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 องศาเซลเซียส จากนั้นนำนมถั่วเหลืองไปเก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส)

Table 9. Ingredients of mocked-up soybean milk

Ingredients	%
Sugar	5
Salt	0.05
κ-carrageenan	0.015
Potassium citrate	0.3
Tri-calcium phosphate	0.1

Source: Adapted from Chaiwanon (1999)

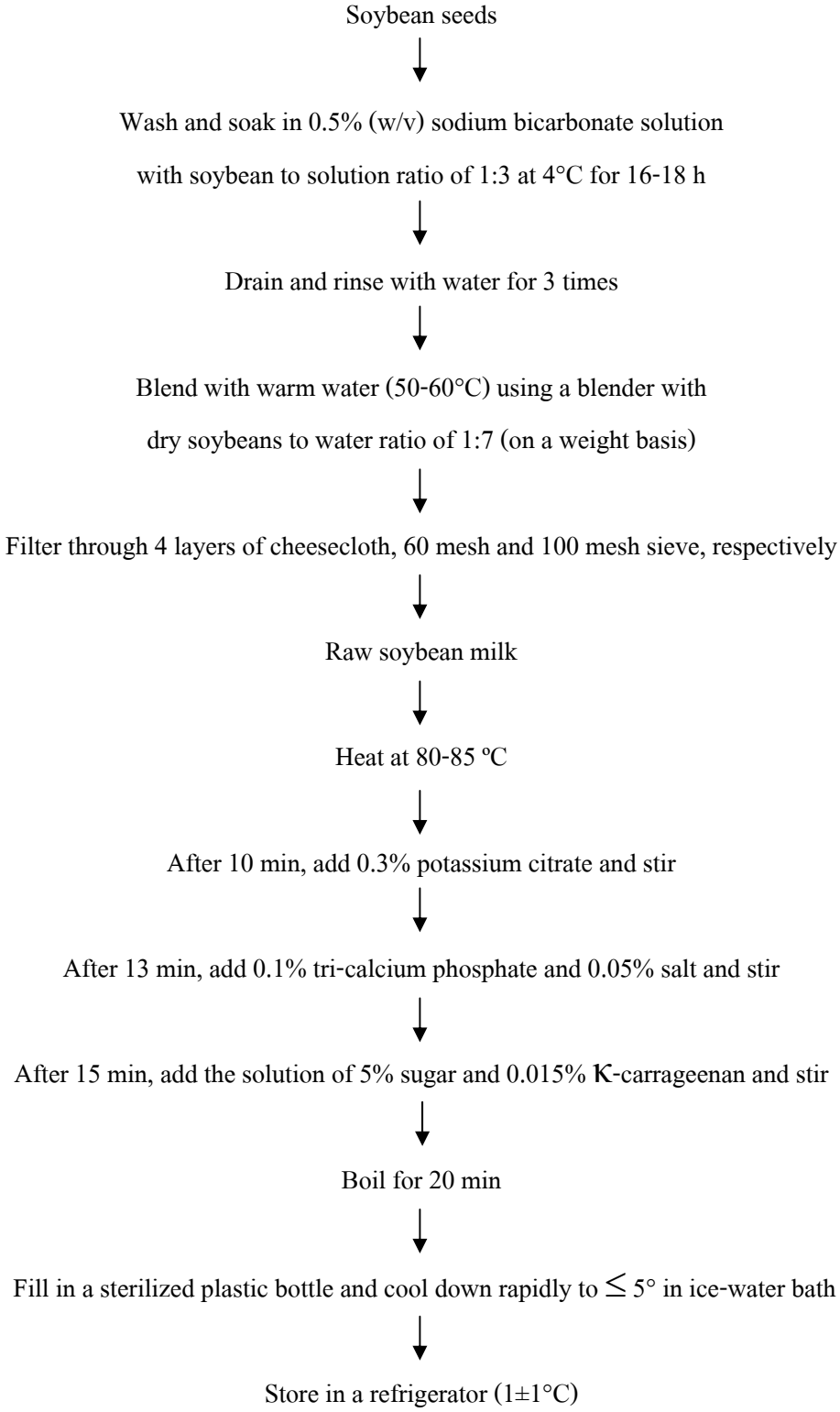


Figure 4. Flow diagram of soybean milk production

Source: Adapted from Chaiwanon (1999)

2.2 การวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง (mock-up)

2.1.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต (A.O.A.C., 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ข1-ข5 ตัวอย่างนมถั่วเหลืองจะถูกนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) ก่อนการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

2.1.2 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย ด้วยวิธี Fritted Glass Crucible Method (A.O.A.C., 2000) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่ศูนย์พัฒนาอุตสาหกรรมเกษตรเพื่อการส่งออก คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ (ADCET)

2.1.3 วิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวน (isoflavone) ด้วยเครื่อง HPLC-UV ตามวิธีของ Simmonne และคณะ (2000) (ภาคผนวก ข9) โดยส่งตรวจวิเคราะห์ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

2.1.4 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) โดยใช้เครื่องมือวัดค่าดรรชนีการหักเหของสาร คือ Atago Automatic Temperature Compensation refractometer รายงานออกมาเป็นค่า องศาบริกซ์ (°Brix) ดังแสดงในภาคผนวก ข6

2.1.5 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) (A.O.A.C., 2000) ดังแสดงในภาคผนวก ข7

2.1.6 วิเคราะห์ความหนืด ด้วยเครื่อง Brookfield Synchrolectric-viscometer รุ่น RVDV II^+ โดยใช้หัวเข็มขนาด No. 1 ความเร็ว 100 รอบต่อนาที และอุณภูมิของนมถั่วเหลือง เท่ากับ 45 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาคผนวก ก1

2.1.7 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L* a* และ b* ด้วยเครื่องวัดค่าสียี่ห้อ Hunter Lab รุ่น ColorFlex ดังแสดงในภาคผนวก ก2

2.3 การสำรวจผู้บริโภคโดยวิธีการอภิปรายกลุ่ม (Focus group)

สำรวจผู้บริโภคโดยการวิจัยเชิงคุณภาพด้วยวิธีการอภิปรายกลุ่ม (Focus group) เพื่อทราบถึงข้อมูลคุณลักษณะ (attributes) และคุณประโยชน์ (benefit) ของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคต้องการ โดยการอภิปรายกลุ่มกับผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย คือ ผู้บริโภคอายุ 60 ปีขึ้นไป จำนวน 40 คน การอภิปรายกลุ่มมีทั้งสิ้น 4 กลุ่ม โดยการอภิปรายกลุ่มที่ชมรมผู้สูงอายุ โรงพยาบาลสงขลา 2 กลุ่ม แบ่งเป็นกลุ่มผู้บริโภคเพศชายและหญิง กลุ่มละ 12 คน และ 11 คน ตามลำดับ และการอภิปรายกลุ่มที่ศูนย์ส่งเสริมสุขภาพและฟื้นฟูสภาพผู้สูงอายุ คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ 2 กลุ่ม แบ่งเป็นกลุ่มผู้บริโภคเพศชายและหญิง กลุ่มละ 6 คน และ11 คน ตามลำดับ การสัมภาษณ์จัดขึ้นในห้องประชุมโดยให้ผู้บริโภคนั่งรอบโต๊ะ มีผู้ดำเนินการอภิปราย 1 คน ทำหน้าที่ควบคุมการอภิปรายกลุ่ม และมีผู้ช่วยอีก 2 คน ทำหน้าที่บันทึกข้อมูลและ

จัดเตรียมตัวอย่าง ก่อนการทดสอบผลิตภัณฑ์ผู้สัมภาษณ์สอบถามถึงการยินยอมในการทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง (แบบฟอร์มดังแสดงในภาคผนวก ง1) จากนั้นทำการอภิปรายกลุ่มโดยใช้แบบสำรวจความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง (ภาคผนวก ง2) ซึ่งใช้เวลาในการอภิปรายกลุ่มประมาณ 50 นาที โดยมีขั้นตอนการอภิปรายกลุ่มดังนี้

2.3.1 การแนะนำ ผู้ดำเนินการอภิปรายแนะนำตัว อธิบายวัตถุประสงค์ของการอภิปราย การบันทึกเทป และการเปิดโอกาสให้ผู้บริโภคแสดงความคิดเห็น

2.3.2 อภิปรายในคำถามทั่วไป เกี่ยวกับพฤติกรรมการซื้อและการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

2.3.3 การทดสอบตัวอย่างนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง

2.3.4 อภิปรายในคำถามเชิงลึก ซึ่งเกี่ยวกับคุณลักษณะด้านต่างของนมถั่วเหลือง และแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

2.3.5 กล่าวขอบคุณและปิดการอภิปรายกลุ่ม

จากนั้นรวบรวมข้อมูลที่ได้มาสร้างคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่จะพัฒนา ทำการปรับปรุงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองให้ตรงกับความต้องการของผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย

3. การศึกษาอัตราส่วนของพรีไบโอติกที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

นำนมถั่วเหลืองที่มีคุณลักษณะตรงตามความต้องการของผู้บริโภค (สูตรจำลอง) จากขั้นตอนที่ 2 มาศึกษาอัตราส่วนพรีไบโอติก 3 ชนิด คือ อินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) โดยเติมส่วนผสมพรีไบโอติกลงในนมถั่วเหลืองร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) (คำนวณจากความบริสุทธิ์ของสารพรีไบโอติก) โดยใช้แผนการทดลองแบบ augmented simplex-centroid ได้สูตรการทดลองทั้งหมด 10 สูตร และเป็นสูตรซ้ำการทดลอง 3 สูตร รวมเป็น 13 สูตรการทดลอง (Table 10) ทำการผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยเตรียมส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ดังแสดงใน Table 9 และผลิตตามขั้นตอนดัง Figure 4 (สำหรับนมถั่วเหลืองสูตรที่เสริมพรีไบโอติกนั้น เติมพรีไบโอติกหลังจากเติมน้ำตาลและแคปป้า-คาราจีแนน) แล้วนำผลิตภัณฑ์มาตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพ ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส และการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองดังนี้

3.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์

3.1.1 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.4

3.1.2 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.5

3.1.3 วิเคราะห์ความหนืด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

3.1.4 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L* a* และ b* เช่นเดียวกับข้อ 2.1.7

Table 10. The augmented simplex-centroid design for prebiotic mixture

Treatment	Proportion of prebiotics					
	Coded level			Actual level (%)		
	I	GOS	IMO	I	GOS	IMO
P1	1	0	0	4	0	0
P2	0	1	0	0	4	0
*P3	1	0	0	4	0	0
P4	0.17	0.67	0.17	0.68	2.68	0.68
P5	0.17	0.17	0.67	0.68	0.68	2.68
*P6	0	1	0	0	4	0
P7	0.5	0.5	0	2	2	0
P8	0.5	0	0.5	2	0	2
P9	0.33	0.33	0.33	1.32	1.32	1.32
P10	0	0	1	0	0	4
*P11	0	0	1	0	0	4
P12	0.67	0.17	0.17	2.68	0.68	0.68
P13	0	0.5	0.5	0	2	2

I = inulin, GOS = galacto-oligosaccharides, IMO = isomalto-oligosaccharides.

* The replicated design point.

3.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

คัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบตามวิธีการของ International Standard ISO 8586-1 (1993) โดยรับสมัครผู้ทดสอบจากนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มีอายุระหว่าง 23-30 ปี จำนวน 30 คน การคัดเลือกผู้ทดสอบโดยการประเมินความแตกต่างโดยรวมของผลิตภัณฑ์ ด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test) จากการทดสอบทั้งหมด 18 ชุดการทดลอง (6 ครั้ง × 3 กลุ่ม) คัดเลือกผู้ทดสอบที่ตอบถูกร้อยละ 70 ขึ้นไป (ดังภาคผนวก จ1-จ3) จากนั้นผู้ทดสอบที่ได้รับการคัดเลือก 18 คน กำหนดคำนิยามของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยให้ผู้ทดสอบทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลองและนมถั่วเหลืองที่เติมอินนูลินร้อยละ 4 จากนั้นร่วมกันอภิปรายเพื่อกำหนดคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ผู้ทดสอบเห็นว่ามีความสำคัญ พร้อมทั้งร่วมกันกำหนดคำนิยามของคุณลักษณะดังกล่าว จากนั้นทำการฝึกฝนผู้ทดสอบ 6 ครั้ง ครั้งละ 2 ชั่วโมง ประเมินประสิทธิภาพของผู้ทดสอบด้วยการเปรียบเทียบกับผู้ประเมินคนอื่นๆ ในกลุ่ม ด้วยการนำข้อมูลจากการทดสอบผลิตภัณฑ์ จำนวน 4 ตัวอย่าง ในคุณลักษณะต่างๆ มาวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ two-way ANOVA ซึ่งแสดงอิทธิพลของผู้ทดสอบ ตัวอย่าง และอิทธิพลร่วมของผู้ทดสอบและตัวอย่าง โดยพิจารณาผู้ทดสอบที่ให้คะแนนเป็นแนวโน้มเดียวกันและไม่มีอิทธิพลร่วมที่ $p>0.05$

ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนทำการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตร ด้วยการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนา โดยใช้แบบถอบถามแบบสเกลเชิงเส้นตรง (linear scaling) 15 เซนติเมตร (ที่ระดับ 1.25 และ 13.75 เซนติเมตร หมายถึง อ่อน (weak) และ เข้ม (strong) ตามลำดับ) ดังแสดงในภาคผนวก ง3 ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองจะถูกเสิร์ฟด้วยอุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส ซึ่งบรรจุในแก้วพลาสติกใสมีฝาปิดปริมาตร 30 มิลลิลิตร และนำเสนอผลิตภัณฑ์แบบ balance order and carry-over effects design (Macfie *et al*., 1989) (ดังแสดงในภาคผนวก จ4) ทำการทดสอบ 3 ช่วง โดยช่วงที่ 1 ทดสอบนมถั่วเหลือง 4 สูตร ช่วงที่ 2 ทดสอบ 4 สูตร และช่วงที่ 3 ทดสอบ 5 สูตร เมื่อเสร็จสิ้นการทดสอบนมถั่วเหลืองในแต่ละช่วงให้ผู้ทดสอบหยุดพัก 30 นาที ก่อนที่จะทดสอบช่วงต่อไป ผู้ทดสอบจะต้องล้างปากด้วยน้ำอุ่น (45-50 องศาเซลเซียส) ในระหว่างการทดสอบนมถั่วเหลืองแต่ละสูตร ซึ่งการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตรนี้ ทำ 2 ซ้ำการทดลอง

3.3 การตรวจสอบผลของพรีไบโอติกต่อการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

ตรวจสอบผลของพรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร (เฉพาะพรีไบโอติก ซึ่งยังไม่เติมในนมถั่วเหลือง) ต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก 3 ชนิด ได้แก่ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 โดยการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้ง 3 ชนิด ในอาหารเหลว MRS (ภาคผนวก ค1) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อร้อยละ 10 (1 มิลลิลิตร) ซึ่งมีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ลงในอาหาร minimal medium (ภาคผนวก ค2) ที่มีการเติมสารพรีไบโอติกที่มีอัตราส่วนต่างๆของ Innulin : GOS : IMO ดังแสดงใน Table 10 ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนโดยจะศึกษาผลของสารพรีไบโอติกต่อการเจริญของโปรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ โดยมีชุดควบคุม คือใช้น้ำตาลกลูโคสแทนสารพรีไบโอติก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาวะไร้อากาศ (เพาะเลี้ยงโดยใช้ขวดที่มีการพ่นก๊าซไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศที่อยู่ภายในขวด เติม cysteine-HCl 0.5 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มสับสเตรทรีดิวซ์ซิ่ง โดยมี rezasurin เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ) ทำการวัดการเจริญของโปรไบโอติก โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ที่เวลาต่างๆ คือ 0, 6, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง

3.4 การสร้างสมการจำลองและทำนายอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสม

ทำนายอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมโดยใช้โปรแกรม Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA) จากการสร้างสมการแบบหุ่นจำลองและแผนภูมิคอนทัวร์ (contour plot) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนอินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโกแซค-คาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) ที่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 นำสมการแบบหุ่นจำลองของแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ มาใช้ในการคำนวณค่าตอบสนองคือการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกเพื่อให้ได้อัตราส่วนพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ได้สูงสุด ด้วยการซ้อนทับแผนภูมิคอนทัวร์ที่ได้จากสมการจำลองการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก จากนั้นใช้โปรแกรม Design Expert คัดเลือกอัตราส่วนของพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดที่เหมาะสม

ยืนยันผลการทำนายสูตรโดยนำอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมจากการทำนายจำนวน 3 สูตร มาเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์แบบกะ จากนั้นทำการวัดการเจริญของโพรไบโอติกเช่นเดียวกับการทดลองข้างต้น (ข้อ 3.3) คัดเลือกสูตรที่ให้การเจริญของโพรไบโอติกสูงสุดและมีต้นทุนของสารพรีไบโอติกต่ำสุดเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นตอนต่อไป

4. การส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกโดยพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม

ศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกโดยพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม (จากข้อ 3.4) ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก *L. acidophilus* TISTR 1034, *L. plantarum* TISTR 875 และ *B. bifidum* DSM 20456 ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นถ่ายเชื้อร้อยละ 10 (1 มิลลิลิตร) ซึ่งมีความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้น 10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร ลงในอาหาร minimal medium (ภาคผนวก ค2) ที่มีการเติมสารพรีไบโอติกที่มีอัตราส่วนที่คัดเลือกจากข้อ 3.4 ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน โดยจะศึกษาผลของสารพรีไบโอติกต่อการเจริญของโปรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ โดยมีชุดควบคุม คือใช้น้ำตาลกลูโคสแทนสารพรีไบโอติก นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงในสภาวะไร้อากาศ (เพาะเลี้ยงโดยใช้ขวดยาฉีดที่มีการปิดด้วยฝาอลูมิเนียม มีการพ่นก๊าซไนโตรเจนเพื่อไล่อากาศที่อยู่ภายในขวด เติม cysteine-HCl 0.5 กรัมต่อลิตร เพื่อเพิ่มสับสเตรทรีดิวซ์ซิ่ง โดยมี rezasurin เพื่อเป็นอินดิเคเตอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ) เก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ คือ 0, 6, 12, 24, 36, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อวัดการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติก โดยการนับจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 โดยการ spread plate บนอาหาร MRS สำหรับ *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 โดยการ pour plate ในอาหาร MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงในสภาวะไร้อากาศ

5. สมบัติทางเคมี กายภาพ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม

5.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

ทำการผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง (ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 5) ผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม จากข้อ 3.4 (ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 5) และผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ตามวิธีการในข้อ 2.1 หลังจากนั้นนำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 สูตรไปวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

5.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพของนมถั่วเหลือง

5.2.1 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1

5.2.2 วิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย เช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

5.2.3 วิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวน (isoflavone) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.3

5.2.4 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.4

5.2.5 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid content) เช่นเดียวกับข้อ 2.1.5

5.2.6 วิเคราะห์ความหนืด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

5.2.7 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L* a* และ b* เช่นเดียวกับข้อ 2.1.7

5.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลือง

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการวิเคราะห์ลักษณะทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม และนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ในทั้ง 6 คุณลักษณะ คือ สี ความหนืด กลิ่นรสถั่ว ความหวาน ความข้นหนืด และรสหวาน (ในปากและคอ) โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน เช่นเดียวกับข้อ 3.2

6. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา

6.1 การเตรียมผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

ทำการผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 และผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ชุดควบคุม (ไม่เติมคาราจีแนน) ตามวิธีการในข้อ 2.1 แล้วเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองในขวดพลาสติกทนความร้อนขนาด 2 ลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ในตู้เย็นอุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำนมถั่วเหลืองทั้ง 2 สูตรไปวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และทางกายภาพ ดังนี้

6.1.1 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.4

6.1.2 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.5

6.1.3 วิเคราะห์ความหนืด เช่นเดียวกับข้อ 2.1.6

6.1.4 วิเคราะห์ค่าสีในระบบ CIE L* a* และ b* เช่นเดียวกับข้อ 2.1.7

6.1.5 วิเคราะห์ค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000) ด้วยพีเอชมิเตอร์ (pH meter) ดังแสดงในภาคผนวก ข8

6.2 การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพระหว่างการเก็บรักษา

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของนมถั่วเหลืองระหว่างการเก็บรักษาที่ 1±1 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ดังนี้

6.2.1 วิเคราะห์ค่าดัชนีการแยกชั้น (Separation index) ตามวิธีของ Priepke และคณะ (1980) ดังแสดงในภาคผนวก ก3

6.2.2 วิเคราะห์ค่าดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย (Suspension stability index) ตามวิธีของ Hinds และคณะ (1997a) ดังแสดงในภาคผนวก ก4

6.3 การทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

นำผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 มาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยทดสอบความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรสถั่ว และความชอบโดยรวม หลังจากเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 วัน โดยผู้ทดสอบที่เป็นผู้คุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง จำนวน 30 คน ด้วยวิธีการ Hedonic scale แบบ 9 ระดับคะแนน (9-point Hedonic scale) กำหนดให้ระดับคะแนน 1 หมายถึงไม่ชอบมากที่สุดไปจนถึงระดับคะแนน 9 หมายถึงชอบมากที่สุด (ภาคผนวก ง4) โดยเสิร์ฟนมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส ซึ่งบรรจุในแก้วพลาสติกใสมีฝาปิด ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

6.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) ด้วยวิธี pour plate (Speck, 1984) ดังแสดงในภาคผนวก ค3 โดยทำการวิเคราะห์ทุกวันตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 30 ของการเก็บรักษา

7. การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (consumer test) ที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ด้วยวิธีการวิจัยเชิงปริมาณในกลุ่มผู้บริโภคสูงอายุ (อายุตั้งแต่ 60 ปีขึ้นไป) ที่บริโภคน้ำนมถั่วเหลืองและยินยอมทำการทดสอบ (แบบฟอร์มการยินยอมในการทดสอบ แสดงในภาคผนวก ง5) จำนวน 200 คน การทดสอบจัดขึ้นบริเวณห้องประชุมหรืออาคารอเนกประสงค์ของชมรมผู้สูงอายุ สนามกีฬา และสถานที่ออกกำลังกายที่มีผู้สูงอายุ ซึ่งเป็นสถานที่ที่สามารถรับสมัครตัวแทนผู้บริโภคเป้าหมายจำนวนมากได้ (central location test, CLT) โดยทำการสอบถามเพื่อหาข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับผู้บริโภค พฤติกรรมการซื้อและการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง ความชอบที่ผู้บริโภคมีต่อผลิตภัณฑ์นม

ถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ในปัจจัยคุณภาพต่างๆ ได้แก่ ความชอบโดยรวม สี กลิ่นรสถั่ว รสชาติ (ความหวาน) และความข้นหนืด รวมทั้งความตั้งใจซื้อผลิตภัณฑ์ซึ่งใช้แบบสอบถามดังแสดงในภาคผนวก ง6 โดยเสิร์ฟตัวอย่างที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส บรรจุในแก้วพลาสติกใสมีฝาปิด ปริมาตร 30 มิลลิลิตร

8. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ในการทดลองข้อ 3-6 และวางแผนการทดลองแบบ augmented simplex-centroid ในการทดลองข้อ 3 วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) แล้วเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ในการทดลองข้อ 3, 5 และ 6 ส่วนการวิจัยในข้อ 4 และ 5.2 วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ t-Test วิเคราะห์ความถี่ไคร์แสควร์ (χ^2) ในการทดลองข้อ 7 จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Window Version 10.0 การสร้างสมการทำนายโดยการวิเคราะห์รีเกรสชั่นและการสร้างแผนภูมิคอนทัวร์ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., Minneapolis, MN, USA)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลือง

การวิจัยนี้ผู้วิจัยใช้ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในการเตรียมนมถั่วเหลืองทั้งนี้เนื่องจากสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นพันธุ์ที่เกษตรกรในประเทศไทยนิยมปลูก ซึ่งได้ผ่านการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตรและได้มีการส่งเสริมให้เพาะปลูก (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2544) อีกทั้งเป็นพันธุ์ที่มีปริมาณโปรตีนและไขมันสูง (โปรตีน ร้อยละ 41.55 ไขมัน ร้อยละ 22.11) เมื่อเทียบกับพันธุ์อื่นๆ ที่ผ่านการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร เช่น พันธุ์สุโขทัย 2 (โปรตีน ร้อยละ 40.54 ไขมัน ร้อยละ 20.66) พันธุ์ สจ.5 (โปรตีน ร้อยละ 40.39 ไขมัน ร้อยละ 20.10) พันธุ์ สจ.4 (โปรตีน ร้อยละ 39.04 ไขมัน ร้อยละ 18.66) (Suriyong *et al*., 2002)

องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 แสดงใน Table 11 ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า เยื่อใย และความชื้นร้อยละ38.86, 37.86, 20.08, 5.2, 2.37 และ 10.63 ตามลำดับ และไอโซฟลาโวน 80.34 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และมีค่าใกล้เคียงกับการทดลองของ Padgette (1996) ที่ศึกษาองค์ประกอบถั่วเหลืองพันธุ์ A5403 ซึ่งพบว่าประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า และเยื่อใยร้อยละ 41.6, 38.1, 15.52, 5.04 และ 7.13 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ และมีความชื้นร้อยละ 8.12 และจากการศึกษาของ Kim และคณะ (2007) พบว่ามีปริมาณไอโซฟลาโวน 57.5 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ทั้งนี้มีหลายปัจจัยที่ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองนั้นแตกต่างกันออกไป เช่น พันธุ์ พื้นที่เพาะปลูกและปีที่เพาะปลูก (Poysa and Woodrow, 2002) เช่นการศึกษาของ Padgette (1996) พบว่าองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองในแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันโดยที่ถั่วเหลืองพันธุ์ GTS 40-3-2 ซึ่งปลูกในปีเดียวกัน (ปลูกในปี 1992) กับถั่วเหลืองพันธุ์ A5403 ที่กล่าวไว้ข้างต้น มีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า และเยื่อใยร้อยละ 41.4, 37.1, 16.28, 5.24 และ 6.87 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ และนอกจากนี้พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ A5403 ที่ปลูกในปี 1993 มีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า และเยื่อใยร้อยละ 41.5, 33.0, 20.11, 5.36 และ 6.71 โดยน้ำหนักแห้งตามลำดับ และนอกจากนี้ Min และคณะ (2005) ได้ศึกษาผลของสายพันธุ์และพื้นที่เพาะปลูกต่อโปรตีนของถั่วเหลือง พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์ HS90-3456, HS90-3515, HS90-3518 และ HS90-3608 ซึ่งปลูกที่เมืองโคลัมบัส รัฐโอไฮโอมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 44.3, 40.9, 44.2 และ 42.8 ตามลำดับ

แต่เมื่อปลูกถั่วเหลืองทั้ง 4 สายพันธุ์ที่เมืองเลควิวจะมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 40.9, 38.8, 39.7 และ 39.9 ตามลำดับ

Table 11. Chemical composition of soybean seed on a dry weight basis

	Content*
Protein (N×6.25) (%)	36.86 ± 0.05
Carbohydrates** (%)	37.86
Fat (%)	20.08 ± 0.06
Ash (%)	5.2 ± 0.08
Fibre (%)	2.37 ± 0.12
Total isoflavone*** (mg/100g)	80.34

* Moisture content = 10.63 ± 0.03 %, Mean ± SD of triplicate determinations.

** Value was obtained by calculation.

*** Total isoflavone = glycitin + genistin + daidzein + glycitein + genistein.

2. การสร้างแนวความคิดด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ (product sensory concept development)

2. 1 คุณภาพของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง

ผลจากการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง (mocked-up) แสดงใน Table 12 พบว่ามีปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า และเยื่อใยร้อยละ 3.18, 7.83, 1.52, 0.73 และ 0.05 ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 13 องศาบริกซ์ ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 13.26 ปริมาณไอโซฟลาโวน 13.26 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ความหนืดของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองเท่ากับ 15.17 เซ็นติพอยส์ และสีของตัวอย่างมีค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง-สีเขียว (a*) และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b*) เท่ากับ 86.88, 0.91 และ 16.82 ตามลำดับ ผลที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ deMan และคณะ (1987) ที่ได้รายงานไว้ว่านมถั่วเหลืองประกอบด้วยความชื้นร้อยละ 94 โปรตีน ร้อยละ 3 ไขมัน ร้อยละ 1.5 คาร์โบไฮเดรตและเถ้า ร้อยละ 1.5 และจากการศึกษาของ Kim และคณะ (2004) รายงานว่าเมล็ดถั่วเหลืองมีปริมาณไอโซฟลาโวนประมาณ 69.97 - 258.16 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ในขณะที่ Prabhakaran และคณะ (2006) พบว่าในผลิตภัณฑ์อาหารจากถั่วเหลืองมีปริมาณไอโซฟลาโวนแตกต่างกันออกไป โดยอาหารเสริมไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลือง ผลิตภัณฑ์สุขภาพจากถั่วเหลือง และนมสำหรับทารกที่มีถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบมี

ปริมาณไอโซฟลาโวน 40.5 – 5,757, 4.632 – 133.38 และ 5.95 – 22.68 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ของตัวอย่าง ตามลำดับ Iwuoha และ Umunnakwe (1997) แสดงให้เห็นว่าวิธีการผลิต อุณหภูมิในการเก็บรักษา และระยะเวลาในการเก็บรักษาล้วนแต่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อองค์ประกอบทางเคมี เคมีกายภาพ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลือง นอกจากนี้ Poysa และ Woodrow (2002) พบว่าสายพันธุ์และปีที่เพาะปลูกมีผลอย่างมากต่อผลิตผลนมถั่วเหลือง ปริมาณของแข็ง และพีเอช ส่วนพื้นที่เพาะปลูกนั้นมีผลน้อยกว่าสายพันธุ์และปีที่เพาะปลูก

Table 12. Chemical and physical properties of mocked-up soybean milk (per 100 g)

Properties	Mocked-up soybean milk*
Chemical properties	
Protein (N×6.25) (%)	3.18 ± 0.03
Carbohydrates** (%)	7.83
Fat (%)	1.52 ± 0.02
Ash (%)	0.73 ± 0.03
Fibre (%)	0.05 ± 0.07
Total isoflavone*** (mg/100ml)	13.26
Physical properties	
Total soluble solid (°Brix)	13
Total solid content (%)	13.26 ± 0.01
Viscosity (cP)	15.17 ± 0.06
Color CIE L^* value	86.88 ± 0.01
a^* value	0.91 ± 0.05
b^* value	16.82 ± 0.02

* Mean ± SD of triplicate determinations.

** Value was obtained by calculation.

*** Total isoflavone = glycitin + genistin + daidzein + glycitein + genistein.

2. 2 ลักษณะทางประชากรศาสตร์ และพฤติกรรมผู้บริโภคเกี่ยวกับการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้บริโภคสูงอายุ (อายุ 60 ปีขึ้นไป) ที่ได้เข้าร่วมการอภิปรายกลุ่ม (Focus group) ซึ่งมีทั้งสิ้น 4 กลุ่ม เป็นเพศชาย 2 กลุ่ม และเพศหญิง 2 กลุ่ม รวมทั้งหมดจำนวน 40 คน ทุกคนเป็นคนจังหวัดสงขลา เพศชาย 18 คน (ร้อยละ 45) และเพศหญิง 22 คน (ร้อยละ 55)

จากการอภิปรายกลุ่มถึงพฤติกรรมการบริโภคนมถั่วเหลืองของผู้บริโภคสูงอายุที่นิยมดื่มนมถั่วเหลือง พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 55.17) ชอบดื่มนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาดและแบบพาสเจอร์ไรซ์เพราะว่าสดใหม่กว่า ส่วนกลุ่มที่ชอบดื่มแบบยูเอชที (ร้อยละ 20.69) นั้นเป็นเพราะว่ามีความสะดวกกว่า ซึ่งผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 79.31) จะดื่มนมถั่วเหลืองน้อยกว่า 3 ครั้งต่อสัปดาห์ ทุกคนดื่มครั้งละ 1 กล่อง/ถุง ผู้บริโภคสูงอายุนิยมดื่มนมถั่วเหลืองแบบร้อนถึงร้อยละ 53.85 ดื่มทั้งแบบร้อนและแบบเย็นร้อยละ 30.77 และดื่มแบบเย็นเพียงแค่ร้อยละ 15.38 ซึ่งผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 72.22) จะดื่มในช่วงเช้า ผู้บริโภคกลุ่มที่ดื่มนมถั่วเหลืองในช่วงเช้านี้โดยส่วนใหญ่คือกลุ่มที่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองแบบร้อน นอกจากนี้มีบางส่วนที่ดื่มในช่วงบ่ายคิดเป็นร้อยละ 11.11 ซึ่งมักจะดื่มนมถั่วเหลืองแบบเย็น

จากการสัมภาษณ์ถึงพฤติกรรมการซื้อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองของผู้บริโภคกลุ่มนี้ พบว่าส่วนใหญ่จะหาซื้อจากทั้ง 2 แหล่ง คือ ห้างสรรพสินค้าหรือร้านสะดวกซื้อและจากตลาด (ร้อยละ 56) รองลงมาคือซื้อจากห้างสรรพสินค้า (ร้อยละ 24) ขึ้นอยู่กับความสะดวกเป็นสำคัญ โดยจะไปซื้อด้วยตัวเองถึงร้อยละ 75 อีกร้อยละ 25 ลูกหลานจะซื้อมาให้ ผู้บริโภคมีพฤติกรรมการซื้อมาเก็บไว้เพื่อบริโภคร้อยละ 55 ซึ่งกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มที่บริโภคนมถั่วเหลืองแบบยูเอชที ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 45 คือไม่ซื้อมาเก็บไว้เพื่อบริโภคซึ่งผู้บริโภคกลุ่มนี้จะเป็นกลุ่มที่บริโภคนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาดและแบบพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งจากการเก็บรักษานมถั่วเหลืองมีผู้ที่เคยเจอปัญหาจากการเก็บรักษานมถั่วเหลืองร้อยละ 25 ปัญหาที่พบ คือ นมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาดและแบบพาสเจอร์ไรซ์มีลักษณะเป็นฟอง และเป็นลิ่ม ส่วนนมแบบยูเอชทีไม่เคยเจอปัญหาดังกล่าว และจากการเก็บรักษามีผู้ที่เคยเจอปัญหาการแยกชั้นของนมถั่วเหลือง (การตกตะกอน) ซึ่งเป็นคุณลักษณะที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ ร้อยละ 16.67 โดยพบทั้งในนมแบบพาสเจอร์-ไรซ์และแบบยูเอชที ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ผู้บริโภคนิยมซื้อมาบริโภคมากที่สุดคือ นมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาด (บรรจุถุง) และนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มยูเอชที ดีน่าสูตรงาดำ (บรรจุกล่องกระดาษ) ซึ่งมีสัดส่วนเท่ากันคือร้อยละ 46.15 เหตุผลที่ชอบนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาด คือ สดใหม่ รสชาติอร่อย และสามารถเลือกระดับความหวานได้ ส่วนเหตุผลที่ชอบนม

ถั่วเหลืองพร้อมดื่มยูเอชที ดีน่าสูตรงาดำ คือ รสชาติอร่อย และสะดวกในการเก็บ บรรจุภัณฑ์ที่ผู้บริโภคกลุ่มนี้นิยมมากที่สุด คือ กล่องกระดาษ (ร้อยละ 45) เป็นเพราะไม่แตก ทานง่ายเพราะมีหลอดติดมาด้วย รองลงมา คือ ขวดแก้ว (ร้อยละ 37.5) เพราะขวดแก้วสามารถมองเห็นข้างใน ไม่มีสารที่เป็นอันตรายจากบรรจุภัณฑ์ และไม่เป็นขยะเพราะสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ทั้งหมด

2. 3 แนวความคิดด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองของผู้บริโภคสูงอายุ

จากการทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลองและการอภิปรายกลุ่มของผู้บริโภคสูงอายุเกี่ยวกับคุณลักษณะด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ ผลปรากฏว่าผู้บริโภคสูงอายุร้อยละ 50 ระบุว่าตัวอย่างมีความข้นหนืดระดับน้อย และผู้บริโภคร้อยละ 45 ระบุว่าตัวอย่างมีความข้นหนืดระดับปานกลาง ซึ่งผู้บริโภคทั้งสองกลุ่มนี้พอใจกับความหนืดของตัวอย่างนมถั่วเหลืองในระดับดังกล่าว เมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านสี พบว่าผู้บริโภคร้อยละ 70 ระบุว่าตัวอย่างมีสีขาว-ครีม ซึ่งผู้บริโภคกลุ่มนี้พึงพอใจกับสีของตัวอย่าง โดยกล่าวว่าดูเป็นสีของนมถั่วเหลืองจริงๆ และมีผู้บริโภคที่ระบุว่าตัวอย่างมีสีขาวและสีขาว-เหลือง คิดเป็นร้อยละ 12.5 และ 15 ตามลำดับ นอกจากนี้มีผู้บริโภคร้อยละ 2.5 ที่ระบุว่าสีของตัวอย่างมีสีขาว-เทา จากการสัมภาษณ์ผู้บริโภคพบว่าโดยปกติแล้วผู้บริโภคจะไม่พึงพอใจกับนมถั่วเหลืองที่มีสีขาว-เทา เนื่องจากดูไม่สะอาดและอาจมีสิ่งปนเปื้อนในนมถั่วเหลืองดังกล่าว เมื่อพิจารณาคุณลักษณะด้านกลิ่นรสถั่วเหลือง ผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 52.5) ระบุว่ากลิ่นรสถั่วนั้นอยู่ในระดับปานกลาง พอดีแล้ว เพราะถ้ามากไปจะฉุน ถ้าน้อยไปก็อาจจะบ่งบอกถึงความเข้มข้นของนมถั่วเหลืองที่น้อย นอกจากนี้มีผู้บริโภคที่ระบุว่าตัวอย่างมีกลิ่นรสถั่วอยู่ในระดับมากและน้อย คิดเป็นร้อยละ 17.5 และ 30 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามผู้บริโภคทั้งสองกลุ่มนี้ต่างก็พอใจกับกลิ่นรสถั่วดังกล่าว ส่วนคุณลักษณะด้านความหวานนั้นผู้บริโภคส่วนใหญ่ระบุว่านมถั่วเหลืองมีความหวานในระดับน้อย (ร้อยละ 82.5) ซึ่งตรงตามความต้องการของผู้บริโภคกลุ่มนี้ที่ไม่บริโภคอาหารหวาน เนื่องจากได้ให้ความสำคัญและระมัดระวังในเรื่องของสุขภาพ และมีผู้บริโภคร้อยละ 15 และ 2.5 ที่ระบุว่าตัวอย่างมีความหวานอยู่ในระดับปานกลางและมาก ตามลำดับ

ข้อมูลสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง ผู้บริโภคสูงอายุมีความคิดเห็นว่าควรเสริมสารอาหารอื่นๆ ลงไปในนมถั่วเหลืองร้อยละ 94.44 ซึ่งควรเสริมสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น แคลเซียม และงาดำ แต่ไม่ควรมีผลต่อรสชาติของนมถั่วเหลือง และเมื่อให้ผู้บริโภคกลุ่มนี้เลือกระหว่างนมถั่วเหลืองสูตรธรรมดากับนมถั่วเหลืองที่เสริมสารอาหารที่มีประโยชน์แต่ราคาแพงกว่า พบว่าผู้บริโภคทั้งหมดเลือกนมถั่วเหลืองที่เสริมสารอาหารที่มีประโยชน์แต่ราคาแพงกว่า จากการร่วมกันอภิปรายกลุ่มในครั้งนี้ผู้บริโภคทั้งหมดยังไม่รู้จักสารพรีไบโอติก และยังไม่รู้ถึง

ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก แต่ว่ามีบางส่วนที่พอจะรู้จักจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ซึ่งมีอยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จนกระทั่งทางผู้วิจัยได้อธิบายข้อมูลเกี่ยวกับสารพรีไบโอติกและประโยชน์ของพรีไบโอติก ซึ่งพบว่าผู้บริโภคทั้งหมดมีความสนใจนมถั่วเหลืองที่เสริมสารพรีไบโอติกและเลือกที่จะซื้อนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่มีราคาแพงกว่านมถั่วเหลืองสูตรธรรมดา โดยให้ความเห็นว่าถึงแม้ราคาจะแพงกว่าแต่ก็จะซื้อเพราะเป็นการบริโภคเพื่อสุขภาพ แต่รสชาติก็ต้องยอมรับได้ด้วย โดยมีผู้บริโภคร้อยละ 66.67 มีความกังกลว่าพรีไบโอติกที่เติมลงไปอาจจะมีผลต่อรสชาติ สี กลิ่นของนมถั่วเหลือง ชื่อผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคกลุ่มนี้ทั้งหมดชอบคือ นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ โดยให้ความเห็นว่าควรเขียนระบุว่า “พรีไบโอติก” มีคุณประโยชน์และดีต่อสุขภาพอย่างไร และระบุว่า “สำหรับผู้สูงอายุ” ด้วย โดยระบุในฉลากของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเพื่อเป็นข้อมูลให้แก่ผู้บริโภคสูงอายุ

โดยสรุป แนวความคิดของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ คือ นมถั่วเหลืองพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรซ์ บรรจุในกล่องกระดาษ มีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ความข้นหนืดในระดับน้อยถึงปานกลาง มีสีขาวครีม มีกลิ่นรสถั่วเหลืองปานกลางและหวานน้อย ผลิตภัณฑ์ควรมีการเสริมสารพรีไบโอติก และต้องมีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง ฉลากของผลิตภัณฑ์ควรเขียนระบุถึงประโยชน์ของพรีไบโอติกและระบุว่าเป็น “ผลิตภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุ”

ดังนั้นผู้วิจัยจึงนำนมถั่วเหลืองสูตรจำลองนี้ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3. การศึกษาอัตราส่วนของพรีไบโอติกที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

นำนมถั่วเหลืองสูตรจำลองจากขั้นตอนที่ 2 มาศึกษาอัตราส่วนพรีไบโอติก 3 ชนิด คือ อินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) โดยเติมส่วนผสมพรีไบโอติกลงในนมถั่วเหลืองร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยใช้แผนการทดลองแบบ augmented simplex-centroid ได้สูตรการทดลองทั้งหมด 10 สูตร และเป็นสูตรซ้ำการทดลอง 3 สูตร (P3, P6, P11) รวมเป็น 13 สูตรการทดลอง (Table 10) แล้วทำการวัดคุณภาพทางกายภาพและประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองดังนี้

3.1 คุณภาพทางกายภาพ

3.1.1 ค่าความหนืด

คุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองด้านต่างๆ ทั้ง 13 สูตร แสดงใน Table 13 พบว่านมถั่วเหลืองสูตรที่มีอัตราส่วนของอินนูลินในปริมาณสูง (P1 และ P3) จะมีความข้นหนืดและปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าสูตรอื่นๆ ($p<0.05$) นั่นคืออินนูลินสามารถเพิ่มความข้นหนืดของนมถั่วเหลืองได้มากกว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทั้งนี้เป็นเพราะพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดที่ศึกษานี้มีค่าดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (degrees of polymerization, DP) แตกต่างกัน โดยอินนูลินมีค่า DP สูงที่สุดคือ DP8-13 ส่วนกาแลคโตโอลิโก-แซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่า DP2 และ DP2-3 ตามลำดับ (ข้อมูล DP จากบริษัทผู้ผลิต) จึงทำให้อินนูลินสามารถเพิ่มความหนืดได้มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของ Tomas และคณะ (2008) พบว่าการเติมอินนูลินสายยาว ($\geq$23 monomers) ทำให้เพิ่มความหนืดเชิงซ้อน (η^*) ทั้งในนมพร้อมมันเนย (whole milk) และนมขาดมันเนย (skimmed milk) ได้มากกว่าอินนูลินสายปกติ (native inulin) (9-12 monomers) และอินนูลินสายสั้น (short chain inulin) (7-9 monomers) ($p<0.05$) ด้วยสมบัติเชิงหน้าที่ของพรีไบโอติกที่มีค่าเฉลี่ย DP ที่แตกต่างกันนี้ Vellegas และคณะ (2007) ได้ศึกษาการผลของการเติมอินนูลินชนิดต่างๆ (อินนูลินสายสั้น สายปกติ หรือสายยาว) ปริมาณร้อยละ 6 ต่อความหนืด (viscosity) ความข้นหนืด (thickness) และความเป็นครีม (creaminess) ของผลิตภัณฑ์นมพร้อมมันเนยและนมขาดมันเนย และใช้เป็นสารแทนไขมันในผลิตภัณฑ์นมขาดมันเนย พบว่าตัวอย่างที่เติมอินนูลินมีความหนืด (apparent viscosity, η_{100}) เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติมอินนูลิน โดยอินนูลินสายยาว สามารถเพิ่มค่าดังกล่าวได้มากกว่าอินนูลินสายปกติและสายสั้น ($p<0.05$) และจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี R-index ในการประเมินความแตกต่างด้านความข้นหนืด (thickness) และความเป็นครีม (creaminess) พบว่าผู้ทดสอบรับรู้ถึงความข้นหนืดที่แตกต่างระหว่างในผลิตภัณฑ์นมขาดมันเนยที่เติมอินนูลินปกติกับสายยาวได้เท่านั้น และรับรู้ถึงความเป็นครีมที่แตกต่างระหว่างอินนูลินสายสั้นกับสายยาวและอินนูลินสายปกติกับสายยาวได้ ส่วนในนมพร้อมมันเนยสามารถรับรู้ถึงความแตกต่างได้เฉพาะความข้นหนืดของอินนูลินสายสั้นกับสายยาวและอินนูลินสายปกติกับสายยาวได้เท่านั้น

3.1.2 ค่าสี

ค่าสี L* (ค่าความสว่าง) a* (ค่าสีแดง-สีเขียว) และ b* (ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน) ของนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากอัตราส่วนของพรีไบโอติกแต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน ($p<0.05$) Table 13 ซึ่งสาเหตุที่ทำให้สีของนมถั่วเหลืองแตกต่างกันเกิดจากการเติมสารพรีไบโอติกลงไปแล้วนำไปให้ความร้อน จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) เกิดสารที่ให้สีน้ำตาลขึ้น (Kwok *et al*., 1999; Huebner *et al*., 2008)

Table 13. The augmented simplex-centroid design for prebiotic mixture and physical properties of various prebiotics supplemented soybean milks

Treatment	Total soluble solid (°Brix)	Mean**				
		Total solid content (%)	Viscosity (cPs)	Color CIE*		
				L* value	a* value	b* value
P1	17	16.04[a]	20.70[a]	83.83[c]	1.02[e]	17.28[a]
P2	17	15.22[c]	19.87[c]	84.09[b]	3.15[a]	15.37[d]
*P3	17	16.01[a]	20.63[a]	83.89[c]	1.06[e]	17.26[a]
P4	17	15.22[c]	18.40[d]	84.54[a]	3.15[a]	15.31[d]
P5	15	13.59[e]	18.27[d]	83.94[c]	3.02[b]	15.58[c]
*P6	17	15.27[c]	19.97[c]	83.62[d]	3.16[a]	15.39[d]
P7	16	15.21[c]	19.83[c]	83.68[d]	2.98[bc]	17.19[a]
P8	15	14.45[d]	18.43[d]	83.81[c]	3.00[bc]	16.32[b]
P9	15	14.46[d]	18.39[d]	83.93[c]	2.89[d]	15.58[c]
P10	15	13.55[e]	17.27[e]	84.17[b]	2.92[cd]	16.28[b]
*P11	15	13.54[e]	17.10[e]	84.12[b]	2.98[bc]	16.27[b]
P12	17	15.89[b]	20.17[b]	84.55[a]	2.88[d]	15.31[d]
P13	16	13.59[e]	17.17[e]	83.92[c]	1.05[e]	16.29[b]

* P3, P6 and P11 were the replicated design point of P1, P2 and P10, respectively.

** Mean of triplicate determinations.

[a-e] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

3.2 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

3.2.1 การกำหนดคุณลักษณะและคำนิยามในการประเมินคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

จากการทดสอบตัวอย่างนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสัมภาษณ์ผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 18 คน เพื่อคัดเลือกคุณลักษณะที่ผู้ทดสอบเห็นว่ามีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองและกำหนดคำนิยามของคุณลักษณะดังกล่าว พบว่ามีคุณลักษณะที่สำคัญของนมถั่วเหลือง 6 คุณลักษณะ คือ ด้านลักษณะปรากฏประกอบด้วยสี และความหนืด ด้านกลิ่นรสประกอบด้วยกลิ่นรสถั่ว และความหวาน ด้านเนื้อสัมผัสประกอบด้วยความข้นหนืด และด้านความรู้สึกหลังกลืนประกอบด้วยรสหวาน (ในปากและคอ) และผู้ทดสอบร่วมกันกำหนดคำนิยามของคุณลักษณะต่างๆ ดังนี้ (แสดงดัง Table 14)

คำนิยามของสี คือ สีที่ปรากฏบนตัวอย่างนมถั่วเหลือง ซึ่งอาจจะมีสีแตกต่างกันไปตั้งแต่สีขาว สีครีม ไปจนถึงสีเหลือง สีขาวที่กล่าวถึงจะมีค่าสีในระบบมันเซลล์ (Munsell) อยู่ในช่วง N9/ – N9.75/ สีครีมมีค่าสีในระบบมันเซลล์อยู่ในช่วง 10YR 9/1 – 10YR 9/2 ส่วนสีเหลืองมีค่าสีในระบบมันเซลล์อยู่ในช่วง 2.5Y 9/1 – 2.5Y 9/2 (Munsell Book of Color)

คำนิยามของความหนืด คือ ความหนืดของนมถั่วเหลืองที่วัดค่าโดยการเอียงภาชนะถ้าของเหลวมีการไหลอย่างรวดเร็วแสดงว่าตัวอย่างมีความหนืดน้อย ถ้าของเหลวมีการไหลช้าแสดงว่าตัวอย่างมีความหนืดมาก

คำนิยามของกลิ่นรสถั่ว คือ การรับรู้กลิ่นที่ได้รับขณะที่ตัวอย่างอยู่ภายในปาก กลิ่นรสถั่วเป็นกลิ่นรสโดยรวมของกลิ่นรสถั่วเหลืองต้มสุกหรือกลิ่นรสนมถั่วเหลือง

คำนิยามของความหวาน คือ รสที่เกิดจากการกระตุ้นโดยสารละลายซูโครส หรือน้ำตาลชนิดอื่นๆ

คำนิยามของความข้นหนืด คือ ความยากง่ายในการไหลของตัวอย่างภายในปากซึ่งสามารถรับรู้ได้โดยการอมตัวอย่างในปากแล้วใช้ลิ้นกวาดตัวอย่างไปมา ถ้าตัวอย่างมีลักษณะการไหลและความรู้สึกภายในปากคล้ายกับน้ำ (watery) หมายความว่ามีความข้นหนืดน้อย ถ้าตัวอย่างมีการไหลหนืดกว่าน้ำและมีความรู้สึกภายในปากหนักกว่าน้ำมาก (heavy) หมายความว่ามีความข้นหนืดมาก

คำนิยามของรสหวาน (ในปากและคอ) คือ เป็นรสหวานที่รับรู้ได้บริเวณของลิ้นและในคอหลังกลืนตัวอย่างลงไป

Table 14. Descriptors developed for general descriptive analysis of soybean milk

Descriptor term	Definition	Reference
Appearance		
Color (white-yellow)	Color aspect of soybean milk	White, cream and yellow color
Thickness (thin-thick)	How thick a drink looks when gently swirling cup	Soybean milk added with 0%, 0.015%, 0.025%, 0.035% and 0.045% carrageenan
Flavor		
Beany flavor (weak-strong)	Beany characteristic flavor sensed before swallowing	Unheated soybean milk
Sweetness (weak-strong)	Perception of sweetness, associated with the presence of sugars	Soybean milk added with 5%, 6%, 6.5%, 7% and 7.5% sucrose
Texture		
Viscosity (slightly-very)	Degree of thickness of the drink during drinking of soybean milk	Soybean milk added with 0%, 0.015%, 0.025%, 0.035% and 0.045% carrageenan
Aftertaste		
Sweetness (weak-strong)	Perception of sweetness remains in the mouth after swallowing the soybean milk	Soybean milk added with 5%, 6%, 6.5%, 7% and 7.5% sucrose

Day N'Kouka และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาเพื่อสร้างคำศัพท์หรือคำนิยามของนมถั่วเหลืองเพื่อใช้อธิบายคุณลักษณะด้านกลิ่น กลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความรู้สึกหลังกลืน ด้วยการให้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 9 คน ทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองทางการค้า 5 สูตร และนมถั่วเหลืองที่เตรียมขึ้นเอง 1 สูตร และร่วมกันอภิปรายเพื่อสร้างคำศัพท์ ซึ่งคำศัพท์ที่ได้ประกอบด้วยคุณลักษณะ ดังนี้ คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านกลิ่น กลิ่นรส และความรู้สึกหลังกลืน ได้แก่ ถั่วเหลืองสุก (cooked soy) ถั่วเหลืองดิบ (raw soy) ถั่วเหลืองอบ (roasted soy) แป้งสาลีดิบ (starchy) รำข้าว (bran) ผลิตภัณฑ์นม (dairy) คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านกลิ่น และกลิ่นรส ได้แก่ ข้าวสุก (cooked grain) ถั่วสด (green) มะม่วงหิมพานต์อบ (nutty) นมสุก (cooked milk)

น้ำข้าว (rice syrup) คาราเมล (caramel) ข้าวมอลท์ (malty) คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านกลิ่น ได้แก่ กลิ่นหืน (rancid) กระดาษแข็ง (cardboard) วานิลลา (vanilla) คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านกลิ่นรส ได้แก่ รสหวาน (sweet) รสเค็ม (salty) คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านเนื้อสัมผัส ได้แก่ เป็นเม็ดผง (chalky) เป็นมัน (oily) คุณลักษณะที่ใช้สำหรับอธิบายด้านกลิ่นรส และความรู้สึกหลังกลืน ได้แก่ กลิ่นรสมันฝรั่ง (potato) เปรี้ยว (sour) ขม (bitter) ฝาด (astringent)

จะเห็นว่าจากการวิจัยนี้มีจำนวนคุณลักษณะที่ทดสอบน้อยกว่างานวิจัยของ Day N'Kouka และคณะ (2004) ทั้งนี้เนื่องจากวัตถุประสงค์ของการทดสอบนี้ต้องการทดสอบเฉพาะคุณลักษณะที่สำคัญ มีความแตกต่างในระหว่างตัวอย่างนมถั่วเหลืองที่ทดสอบรวมทั้งเป็นคุณลักษณะที่ผู้บริโภคทั่วไปสามารถรับรู้ถึงความรู้สึกได้ ซึ่งอาจจะให้ผลแตกต่างจากผู้ทดสอบที่เป็นผู้เชี่ยวชาญ (expert) หรือผู้ที่ผ่านการฝึกฝนเป็นอย่างดี รวมทั้งตัวอย่างที่ใช้ทดสอบอาจมีสมบัติที่แตกต่างกัน

3.2.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทั้ง 6 คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตร โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 18 คน พบว่านมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตร ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) ในทุกคุณลักษณะที่ทำการทดสอบ (Table 15) ดังนั้นจึงไม่นำไปทำนายสมการแบบหุ่นจำลอง สาเหตุที่ตัวอย่างทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกันเนื่องจากพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดที่นำมาศึกษานี้มีระดับความหวานที่ใกล้เคียงกัน คือ มีความหวานอยู่ในช่วงร้อยละ 30-60 ของน้ำตาลซูโครส (Belitz *et al*., 2004) จึงทำให้ตัวอย่างทั้งหมดมีความหวาน และ รสหวาน (ในปากและคอ) ใกล้เคียงกันมาก อีกทั้งพรีไบโอติกทั้งสามชนิดที่ศึกษานี้ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น จึงทำให้ไม่มีผลต่อสีและกลิ่นของนมถั่วเหลือง และถึงแม้ว่านมถั่วเหลืองที่มีอินนูลินในปริมาณสูง (P1 และ P3) จะมีความข้นหนืดจากการวัดด้วยเครื่องวัดความหนืดสูงที่สุด และแตกต่างจากตัวอย่างอื่นๆ ($p<0.05$) (Table 13) โดยความแตกต่างของค่าความหนืดสูงสุดและค่าความหนืดต่ำสุดเท่ากับ 3.6 เซ็นติพอยส์ ซึ่งขนาดดังกล่าวน้อยเกินไปที่ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนจะสามารถแยกแยะได้

การศึกษาในหัวข้อที่ 3 นี้เพื่อต้องการคัดเลือกอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์เสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ แต่เนื่องจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีเชิงพรรณนาของนมถั่วเหลืองทั้ง 13 สูตรนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ดังนั้น จึงไม่ทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์ และไม่นำไปทำนายสมการแบบหุ่นจำลอง ผู้วิจัยจึงคัดเลือกอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมโดยพิจารณาจากการศึกษาในหัวข้อที่ 4 เพียงอย่างเดียว

Table 15. Average scores** of soybean milks supplemented with various prebiotic mixtures

Treatment	Appearance		Flavor		Texture	Aftertaste
	Color	Thickness	Beany flavor	Sweetness	Viscosity	Sweetness
P1	6.03[a]	4.92[a]	4.63[a]	5.49[a]	4.92[a]	5.58[a]
P2	6.78[a]	4.35[a]	4.14[a]	6.26[a]	4.95[a]	5.92[a]
*P3	7.09[a]	5.22[a]	4.77[a]	4.94[a]	4.83[a]	4.93[a]
P4	6.72[a]	5.29[a]	4.08[a]	5.11[a]	4.75[a]	5.06[a]
P5	6.70[a]	4.76[a]	4.76[a]	5.22[a]	4.53[a]	5.49[a]
*P6	6.09[a]	4.98[a]	4.07[a]	5.34[a]	4.63[a]	5.36[a]
P7	6.63[a]	5.24[a]	4.66[a]	5.41[a]	5.11[a]	5.50[a]
P8	6.86[a]	5.05[a]	4.23[a]	5.11[a]	4.72[a]	5.06[a]
P9	6.47[a]	4.90[a]	3.96[a]	5.13[a]	4.56[a]	5.16[a]
P10	6.80[a]	5.00[a]	4.52[a]	5.58[a]	4.92[a]	5.40[a]
*P11	6.44[a]	4.57[a]	3.76[a]	5.74[a]	4.19[a]	5.27[a]
P12	6.47[a]	5.11[a]	4.22[a]	5.45[a]	4.33[a]	5.16[a]
P13	6.71[a]	4.85[a]	4.08[a]	5.60[a]	4.81[a]	5.53[a]

* P3, P6 and P11 were the replicated design point of P1, P2 and P10, respectively.

** Scale = 15 cm, 1.25 = weak, 13.75 = strong.

[a] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

4. การคัดเลือกอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมจากการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

คัดเลือกอัตราส่วนพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ดีที่สุด ด้วยการทดสอบส่วนผสมของพรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร (Table 10) ที่ได้จากการวางแผนการทดลองแบบ augmented simplex-centroid ต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก 3 ชนิด คือ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 (Table 16) จากการเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกแบบกะใน minimal medium broth เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยใช้สารพรีไบโอติกในอัตราส่วนต่างๆ (พรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร) และกลูโคส (สูตรควบคุม) เป็นแหล่งคาร์บอนนั้น แบคทีเรีย *B. bifidum* DSM 20456 เจริญถึงระยะคงที่ (stationary phase) ณ ชั่วโมงที่ 48 ส่วน *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 เจริญถึงระยะคงที่ ณ ชั่วโมงที่ 24 แสดงดัง Figure 5 ตามหลักทฤษฎีจุลินทรีย์สายพันธุ์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้จะเจริญในพรีไบโอติกได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการเจริญในน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลที่มีกิจกรรมพรีไบโอติกควรจะถูกนำไปใช้โดยจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบได้ดีหรือใกล้เคียงกับกลูโคส (Huebner *et al*., 2007) ผลการทดลองพบว่าโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์เจริญได้ดีที่สุดในสูตรที่มีกลูโคส และการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทดสอบในสูตรที่มีกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอัตราส่วนที่สูง (P2, P4, P6 และ P13) (อัตราส่วนของพรีไบโอติกแต่ละชนิด ดังแสดงใน Table 10) จะเจริญได้ดีกว่าสูตรที่มีไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์หรืออินนูลินในอัตราส่วนที่สูง ($p<0.05$) โดยที่การเจริญของโพรไบโอติกในสูตรที่มีเฉพาะอินนูนินเพียงชนิดเดียว (P1 และ P3) มีการเจริญที่ต่ำที่สุด ($p<0.05$)

ส่วนผสมของพรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร มีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกที่ทดสอบทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ ดังนั้น หากคัดเลือกส่วนผสมของพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมแล้วนำไปเติมในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง พรีไบโอติกที่เติมลงไปก็มีโอกาสในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ภายหลังการบริโภคนมถั่วเหลืองได้เช่นกัน

Table 16. The effect of prebiotics on the growth** of probiotic bacteria in the batch culture fermentations

Treatment	*B. bifidum* DSM 20456	*L. plantarum* TISTR 875	*L. acidophilus* TISTR 1034
P1	0.06 ± 0.00^{f}	0.17 ± 0.01^{h}	0.41 ± 0.01^{e}
P2	0.27 ± 0.02^{b}	0.30 ± 0.01^{cd}	0.74 ± 0.05^{ab}
*P3	0.06 ± 0.00^{f}	0.17 ± 0.01^{h}	0.41 ± 0.01^{e}
P4	0.26 ± 0.03^{bcd}	0.31 ± 0.01^{bc}	0.78 ± 0.03^{a}
P5	0.24 ± 0.01^{de}	0.29 ± 0.01^{de}	0.71 ± 0.08^{bc}
*P6	0.27 ± 0.02^{b}	0.30 ± 0.01^{cd}	0.74 ± 0.05^{ab}
P7	0.25 ± 0.01^{bcde}	0.27 ± 0.01^{fg}	0.67 ± 0.03^{cd}
P8	0.25 ± 0.01^{cde}	0.25 ± 0.00^{g}	0.62 ± 0.03^{d}
P9	0.26 ± 0.00^{bcd}	0.28 ± 0.01^{ef}	0.73 ± 0.02^{abc}
P10	0.24 ± 0.00^{cde}	0.30 ± 0.01^{cd}	0.72 ± 0.03^{abc}
*P11	0.24 ± 0.00^{cde}	0.30 ± 0.01^{cd}	0.72 ± 0.03^{abc}
P12	0.23 ± 0.01^{e}	0.27 ± 0.01^{f}	0.64 ± 0.04^{d}
P13	0.26 ± 0.01^{bc}	0.32 ± 0.01^{b}	0.75 ± 0.01^{ab}
Glucose	0.30 ± 0.02^{a}	0.34 ± 0.00^{a}	0.71 ± 0.02^{bc}

* P3, P6 and P11 were the replicated design point of P1, P2 and P10, respectively.

** Values are mean optical density ± S.D. for *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 after 48 h fermentation, *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 after 24 h fermentation.

[a-h] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

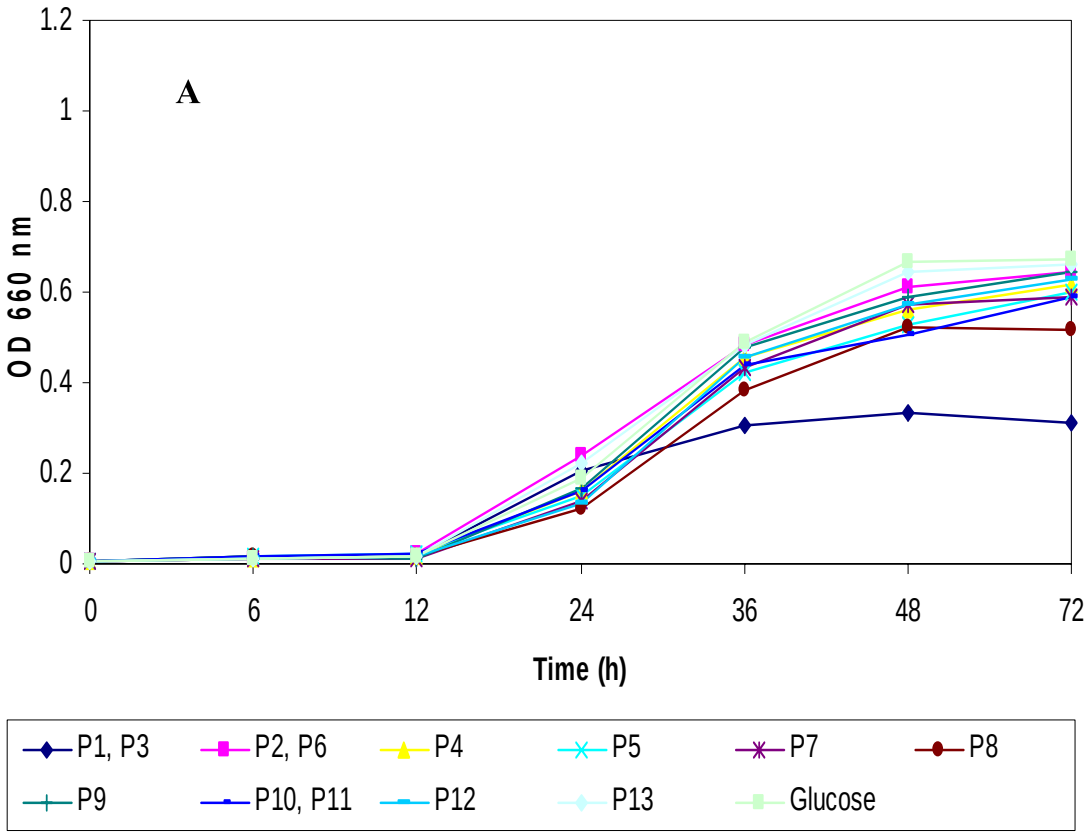
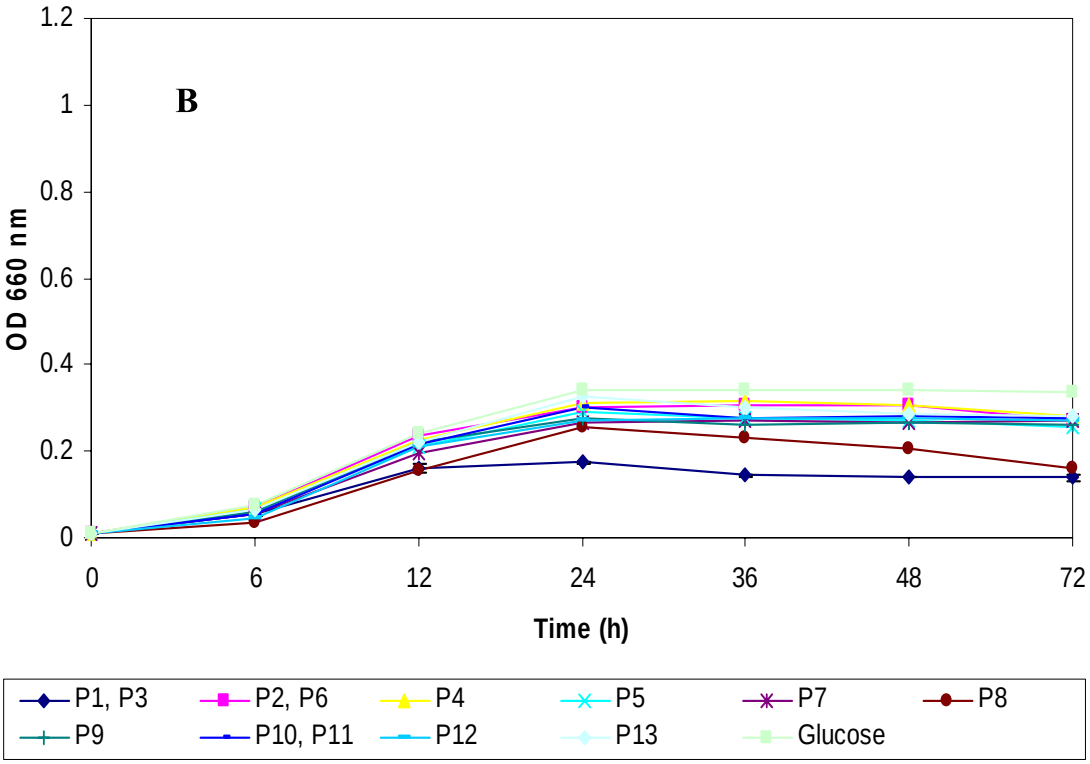


Figure 5. The growth curves for *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 (A), *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 (B) and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 (C) in the batch culture fermentation supplemented with various prebiotic mixtures (1% w/v) and glucose as carbon sources. The growth curves 1: P1 and P3, 2: P2 and P6, 3: P4, 4: P5, 5: P7, 6: P8, 7: P9, 8: P10 and P11, 9: P12, 10: P13 and 11: glucose (control) were determined by measuring the OD of the cultures at 660 nm intermittently over a 72 h period.



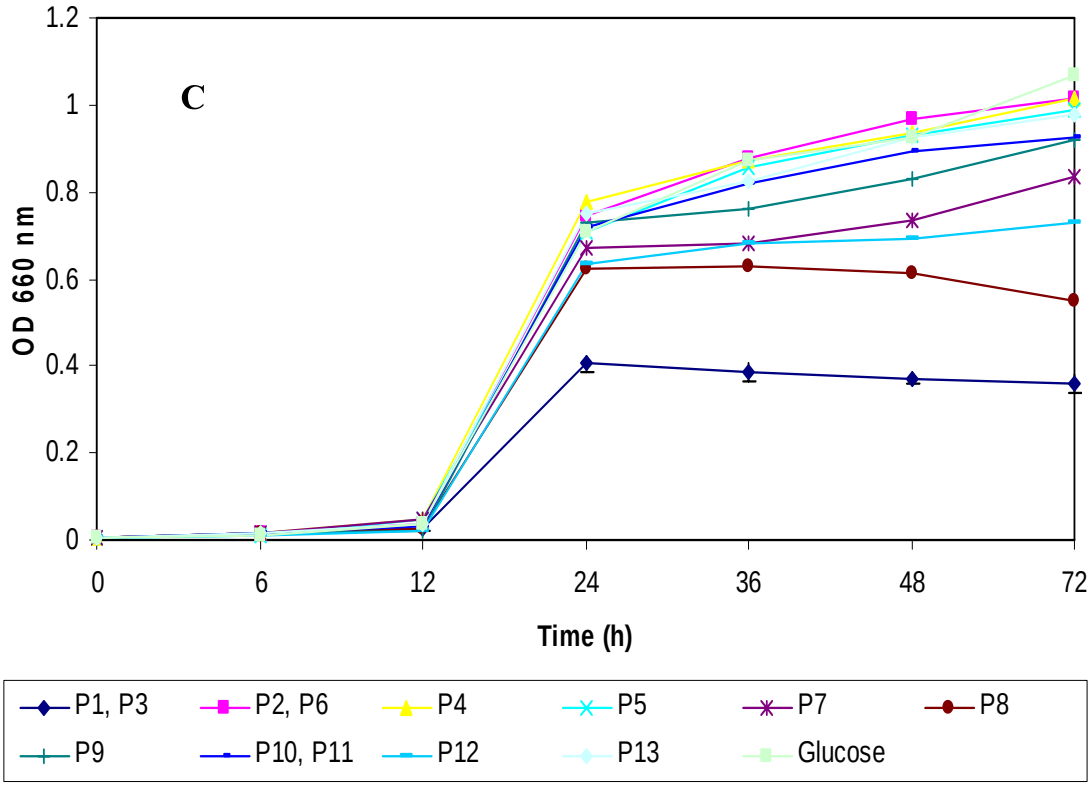


Figure 5. (Continued)

การทำนายอัตราส่วนพรีไบโอติกที่เหมาะสมโดยใช้โปรแกรม Design Expert version 7.0.3 (ผลการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ค4) จากการสร้างสมการแบบหุ่นจำลองและแผนภูมิคอนทัวร์ (contour plot) ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนอินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) ที่มีผลในการส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 ได้สมการแบบหุ่นจำลองดังแสดงใน Table 17 และแผนภูมิคอนทัวร์ในแต่ละชนิดโพรไบโอติกดัง Figure 6 จาก Table 17 สมการแบบหุ่นจำลองของการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ เป็นแบบหุ่นกำลังสอง (quadratic model) ซึ่งตัวแปรที่ศึกษา (I, GOS และ IMO) มีผลต่อการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ (probability level, $p^* < 0.05$) และสมการแบบหุ่นจำลองสามารถอธิบายข้อมูลได้ดี ไม่มีความบกพร่อง (lack of fit, $p > 0.05$) สมการมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R^2) อยู่ในช่วง 0.95 - 0.98 ซึ่งสามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างความแปรปรวนของตัวแปรที่ศึกษาและความแปรปรวนของค่าตอบสนองได้ร้อยละ 95-98 โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ควรมีค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจอย่างน้อยเท่ากับ 0.75 (Hu, 1999) นั่นก็หมายความว่าแบบหุ่นจำลองทั้ง 3 มีความแม่นยำและความน่าเชื่อถือสูงจึงเหมาะในการนำมาคาดคะเนอัตราส่วนของพรีไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ดังนั้นจึงนำสมการแบบหุ่นจำลองของแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ มาใช้ในการคำนวณค่าตอบสนองคือการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกเพื่อให้ได้อัตราส่วนพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้สูงสุด

Table 17. The predictive and regression models and goodness-of-fit obtained from the growth of probiotic bacteria

Parameter	Regression models	R^2	p^*	Lack of fit (p)
Bb	$Bb = 0.069I + 0.26GOS + 0.24IMO + 0.35I \times GOS + 0.36I \times IMO - 1.65 \times 10^{-3} GOS \times IMO$	0.97	<0.0001	0.0593
Lp	$Lp = 0.18I + 0.31GOS + 0.30IMO + 0.12I \times GOS + 0.064I \times IMO + 0.066GOS \times IMO$	0.95	<0.0002	0.0614
La	$La = 0.41I + 0.77GOS + 0.72IMO + 0.43I \times GOS + 0.29I \times IMO + 0.056GOS \times IMO$	0.98	<0.0001	0.4430

Bb = Growth of *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456, Lp = Growth of *Lactobacillus plantarum* TISTR 875, La = Growth of *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034.

I = inulin, GOS = galacto-oligosaccharides, IMO = isomalto-oligosaccharides.

p^* = Probability level.

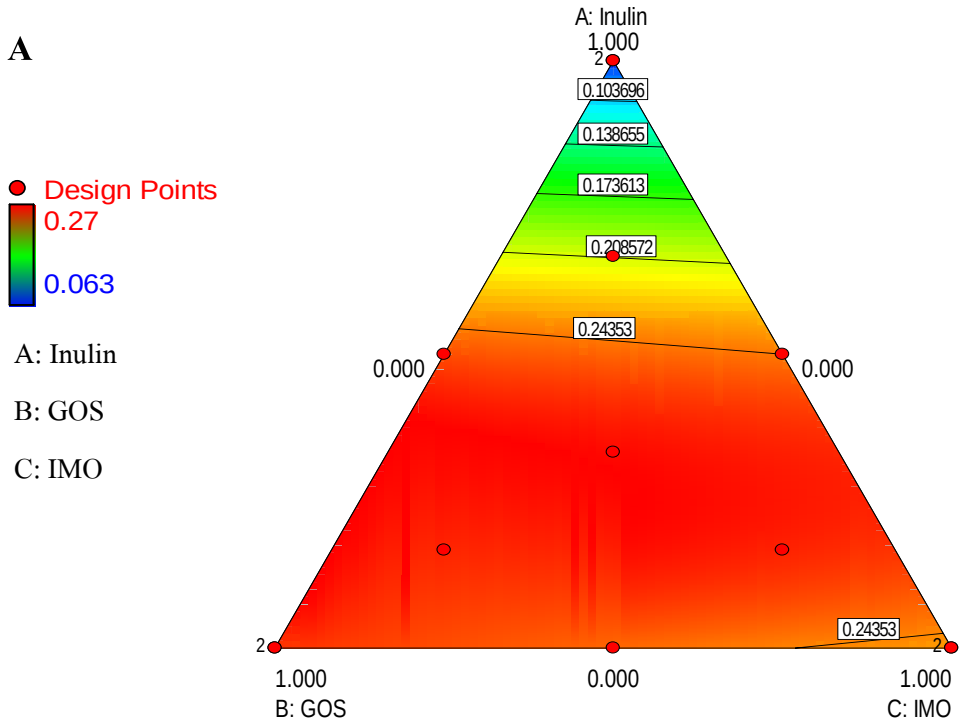
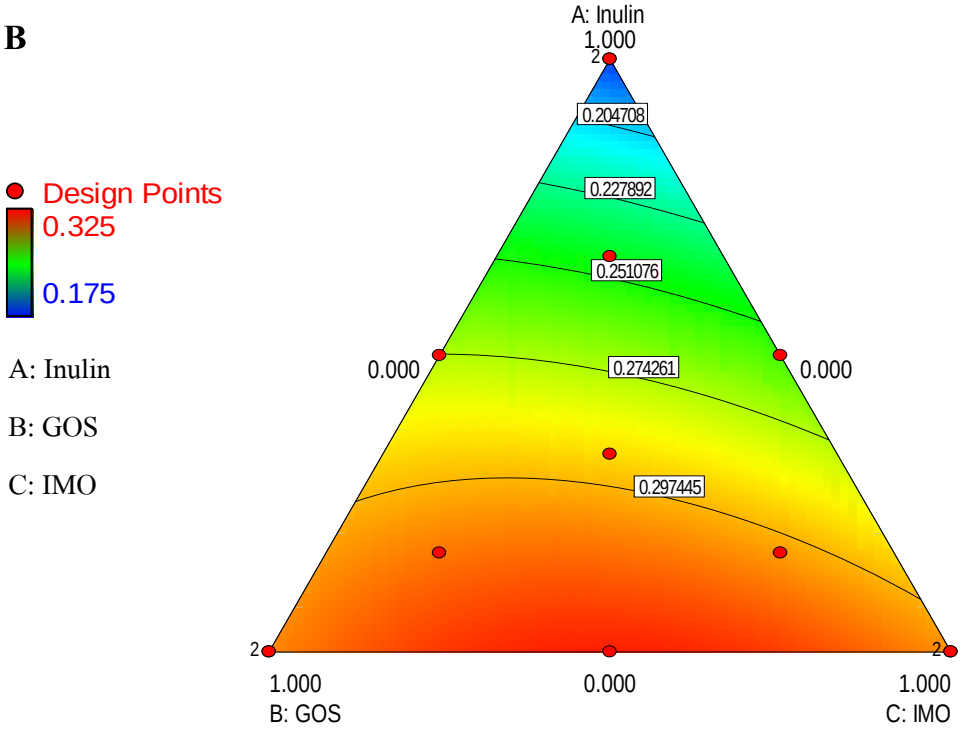


Figure 6. Contour plot for *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 (A), *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 (B) and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 (C) growth in the batch culture fermentation supplemented with different mixtures of inulin (I), galacto-oligosaccharides (GOS) and isomalto-oligosaccharides (IMO).



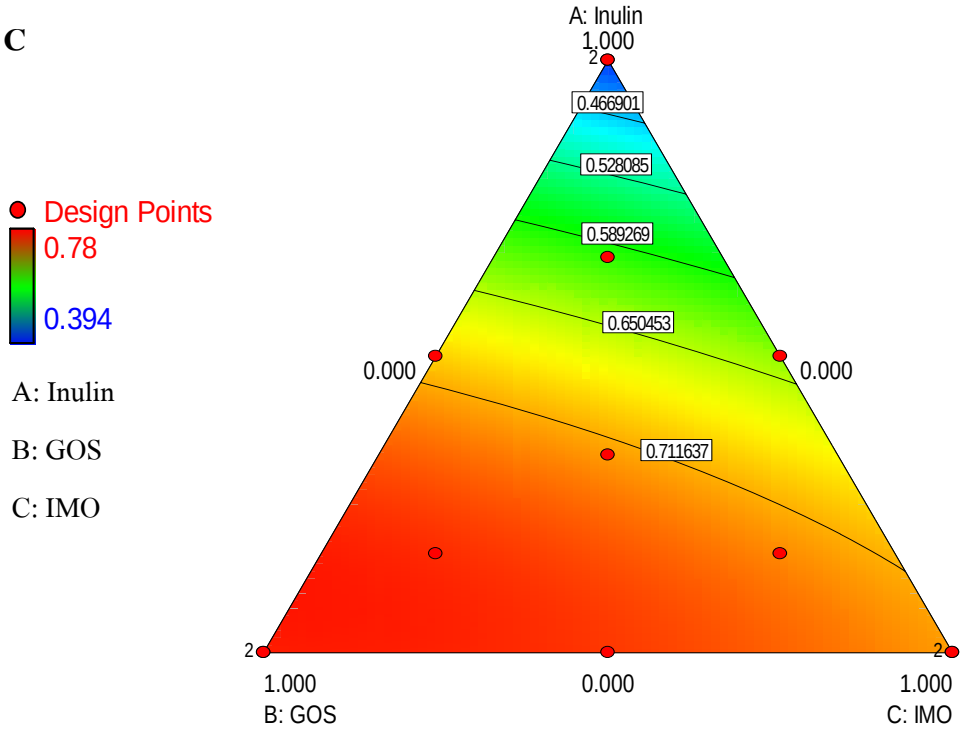


Figure 6. (Continued)

จากแผนภูมิคอนทัวร์ของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 (Figure 6) พบว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) เป็นตัวแปรที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 มากที่สุด (มีค่าสัมประสิทธิ์สูงที่สุด ดังแสดงใน Table 17) ในขณะที่อินนูลิน (I) มีอิทธิพลต่อการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์น้อยที่สุด (มีค่าสัมประสิทธิ์ต่ำที่สุด) โดยปกติโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบ (galactose-containing oligosaccharides) เช่น กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์มีประสิทธิผลในการเพิ่มจำนวน bifidobacteria มากกว่าอินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีฟรุกโตสเป็นองค์ประกอบอย่างชัดเจน (Rycroft *et al*., 2001) อีกสาเหตุที่ทำให้อินนูลินถูกโพรไบโอติกนำไปใช้ได้น้อยก็เนื่องจากอินนูลินมีค่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (degrees of polymerization, DP) ที่สูงกว่า คือ มีค่า DP8-13 ในขณะที่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่า DP2 และ DP2-3 ตามลำดับ Rycroft และคณะ (2001) พบว่าไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์และกาแลคโตโอ-ลิโกแซคคาไรด์มีประสิทธิผลในการเพิ่มจำนวน bifidobacteria ได้อย่างมาก แต่อินนูลินสามารถเพิ่มจำนวน bifidobacteria เพียงเล็กน้อยเท่านั้น พรีไบโอติกที่มีดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (DP) ที่แตกต่างกันจะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียได้แตกต่างกัน เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้สารอาหารโมเลกุลเล็กได้ดีกว่าสารอาหารโมเลกุลใหญ่ (Banuelos *et al*., 2008) โดยโอลิโกแซคคาไรด์จะถูกไฮโดรไลส์โดยเอนไซม์ไกลโคซิเดส (glycosidases) จากเซลล์แบคทีเรียก่อนที่จะนำโมโนแซคคาไรด์ที่ได้ไปใช้ เพราะฉะนั้นจึงสันนิษฐานได้ว่าโอลิโกแซคคาไรด์ที่สายยาวกว่าเกิดการหมักที่ช้ากว่า จึงยากต่อการนำไปใช้ของแบคทีเรียโพรไบโอติก ดังนั้น พรีไบโอติกที่นิยมนำมาใช้ส่วนใหญ่จะมี DP ค่อนข้างต่ำ (Gibson, 2004)

นอกจากนี้แบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้สารอาหารแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไปและจะมีความจำเพาะที่แตกต่างกัน โดยพบว่า *B. angulatum, B. infantis* และ *B. adolescentis* ไม่เจริญบน high methylated pectin (HMP) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มพอลิแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่ แต่สามารถเจริญได้บน low methylated pectin (LMP) ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ที่มีขนาดเล็กกว่า และพบว่า *L. plantarum* 0207 เจริญได้ดีทั้งบน HMP และ LMP ในขณะที่ *B. bifidum* Bb12 และ *L. acidophilus* สามารถเจริญบน HMP และ LMP ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Olano-Martin *et al*., 2002) สาเหตุที่แบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้สารพรีไบโอติกได้แตกต่างกัน เนื่องจากความแตกต่างของโครงสร้างของพอลิเมอร์และการสร้างเอนไซม์ของแบคทีเรียขึ้นมาย่อยโมเลกุลของสารพรีไบโอติกนั้น โดยเอนไซม์แต่ละชนิดที่แบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ผลิตขึ้นจะมีความจำเพาะต่อสาร

พรีไบโอติกแต่ละชนิดแตกต่างกัน กล่าวคือเอนไซม์ที่จะสามารถย่อยโมเลกุลของสารพรีไบโอติกได้ต้องเป็นเอนไซม์ชนิดที่มีความจำเพาะกันกับพันธะดังกล่าว (Warchol *et al*., 2002) ซึ่งสารพรีไบโอติกจะมีองค์ประกอบและการเชื่อมต่อกันระหว่างพันธะภายในโมเลกุลที่ต่างกัน เช่น อินนูลิน และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์มีโครงสร้าง คือ Glu α1-2[βFru1-2]$_n$ กาแลคโตโอลิโก-แซคคาไรด์มีโครงสร้าง คือ α-D-Glu-(1-4)-[β-D- Gal-(1-6)-]$_n$ และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มีโครงสร้าง คือ α1-6[Glu]$_n$ (Gibson, 2004)

แบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ได้แตกต่างกันออกไป เช่น *L. plantarum* สามารถผลิตเอนไซม์ α-galactosidase, β-galactosidase, α-glucosidase, β-glucosidase, α-mannosadase และ N-acetyl-β-glucosaminidase (Papamanoli *et al*., 2003) และพบว่า *L. plantarum* WCFS1 และ *L. acidophilus* สามารถผลิตเอนไซม์ β-fructofuranosidase ได้ (Saulnier *et al*., 2007) แต่ *L. acidophilus* ไม่ผลิต α-galactosidase และ α-glucosidase (Papamanoli *et al*., 2003) ในขณะที่ *L. acidophilus* BG2FO4 มีกิจกรรมของเอนไซม์ β-galactosidase ที่สูง (Saltzman *et al*., 1999) นอกจากนี้ *L. acidophilus* NCFM สามารถผลิต β-fructosidase ได้ ในขณะที่ *L. johnsonii* NCC 533 ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ชนิดนี้ได้ (Makras *et al*., 2005) ส่วนแบคทีเรีย *B. bifidum* สามารถผลิตเอนไซม์ α-galactosidase, β-galactosidase, α-glucosidase และ N-acetyl-D-glucosaminidase ได้ (Desjardins *et al*., 1990) ส่วน *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. breve*, *B. infantis* และ *B. catenulatum, B. pseudocatenulatum* สามารถผลิตเอนไซม์ α-galactosidase, β-galactosidase, α-glucosidase และ β-glucosidase ได้ (Scalabrini *et al*., 1998; Desjardins *et al*., 1990)

จากการศึกษาของ Warchol และคณะ (2002) พบว่าถึงแม้ว่าจะเป็นเอนไซม์ชนิดเดียวกันแต่มีความสามารถในการย่อยโมเลกุลของสารพรีไบโอติกได้แตกต่างกัน โดยพบว่า β-fructofuranosidase ที่สร้างจากแบคทีเรียต่างชนิดกันมีความสามารถในการย่อยพันธะ β-2,1 ของซูโครส ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินได้แตกต่างกัน Ryan และคณะ (2005) พบว่า β-fructofuranosidase ที่ได้จาก *B. breve* มีกิจกรรมในการย่อยพันธะ β-2,1 glucose-fructose สูงสุด ในขณะที่ Janer และคณะ (2004) พบว่า β-fructofuranosidase ที่ได้จาก *B. lactis* มีกิจกรรมในการย่อยพันธะ β-2,1 fructose-fructose สูงสุด นอกจากนี้จากการศึกษาใน *Bifidobacterium* จำนวน 8 สายพันธุ์ ต่อการใช้คาร์โบไฮเดรตชนิดต่างๆ คือ กลูโคส ไซโลส (xylose) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharides, XOS) ไซแลน (xylan) และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ของ Palframan และคณะ (2003) พบว่าทุกสายพันธุ์เจริญในอาหารที่มีกลูโคสได้ดีที่สุด โดยแบคทีเรียกลุ่มแรก คือ *B.*

catenulatum, *B. gallicum* และ *B. adolescentis* สามารถเจริญในอาหารที่มีไซโลสและไซโลโอลิโก-แซคคาไรด์ได้ดี ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มที่สอง คือ *B. bifidum*, *B. angulatum*, *B. breve*, *B. pseudolongum*, *B. longum* และ *B. infantis* สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มี FOS แต่จะเจริญได้น้อยในคาร์โบไฮเดรตจำพวกที่มีไซโลสเป็นส่วนประกอบ ทั้งนี้เป็นเพราะแบคทีเรียกลุ่มที่สองไม่สามารถผลิตเอนไซม์ β-xylosidases เพื่อย่อยอาหารดังกล่าวได้นั่นเอง

จากการศึกษาในวิทยานิพนธ์นี้พบว่าโพรไบโอติกทุกสายพันธุ์ที่ทดสอบเจริญในอาหารที่มีโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีสายสั้นได้ดีกว่า ซึ่งก็คือกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และไอโซ-มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ โอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นกว่าจะเป็นตัวแรกที่ถูกใช้โดย bifidobacteria ในขณะที่โครงสร้างสายยาวของอินนูลินส่วนใหญ่นั้นใช้เวลาในการหมักที่นานกว่าในลำไส้ใหญ่ (Aryana and McGrew, 2007) Roberfroid และคณะ (1998) รายงานว่าจากการหมักอินนูลินด้วยแบคทีเรียจำพวกที่อยู่ในอุจจาระมนุษย์ พบว่าอินนูลินที่มี DP < 10 ใช้เวลาในการหมักเร็วกว่า โดยใช้เวลาเพียงครึ่งหนึ่งของอินนูลินที่มี DP > 10 Van der Meulen และคณะ (2004) แสดงให้เห็นว่า *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่ใช้กลูโคสหรือพอลิเมอร์ของฟรุกโตสที่มีสายยาว (DP > 20) เป็นแหล่งคาร์บอนได้ ในขณะที่การหมักด้วยโอลิโกฟรุกโตส (Raftilose P95) และส่วนผสมของอินนูลินและโอลิโกฟรุกโตส (Raftilose Synergy1) นั้นกลับมีการเปลี่ยนแปลงทั้งการเจริญและการสังเคราะห์สาร ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียชอบใช้ฟรุกโตสที่มีสายสั้นกว่ามากกว่าสายยาว

นอกเหนือจากปัจจัยดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในข้างต้น ยังมีอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในอาหารที่มีการเติมสารพรีไบโอติกลงไป นั่นคือ น้ำตาลโมเลกุลเชิงเดี่ยวที่ปะปนอยู่ในสารพรีไบโอติกที่ศึกษา ได้แก่ กลูโคส และฟรุกโตส ซึ่งแบคทีเรียสามารถนำไปใช้ได้ง่ายเนื่องจากเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีขนาดโมเลกุลเล็กที่สุด โดยสารพรีไบโอติกที่นำมาศึกษานี้มีความบริสุทธิ์แตกต่างกัน คือ อินนูลิน (Frutafit® HD) มีความบริสุทธิ์ ร้อยละ 90 ซึ่งประกอบด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 90 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือ คือ ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligomate55) มีความบริสุทธิ์ ร้อยละ 55 ซึ่งประกอบไปด้วยกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 55 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือ คือ กลูโคส และแลคโตส และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Biotose50) มีความบริสุทธิ์ ร้อยละ 50 ซึ่งประกอบด้วยไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 50 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือ คือ มอลโตส และกลูโคส (Cummings *et al*., 2001; Macfarlane *et al*., 2006) จะเห็นได้ว่านอกเหนือจากสารพรีไบโอติกแล้วยังมีน้ำตาลโมเลกุลเชิงเดี่ยวที่จะเป็นตัวช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้อีกด้วย

โดยเฉพาะอย่างยิ่งกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งมีปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเชิงเดี่ยวอยู่มากกว่า (มีความบริสุทธิ์น้อยกว่า) เมื่อเปรียบเทียบกับอินนูลิน

การคัดเลือกอัตราส่วนของพรีไบโอติกทั้งสามชนิดที่เหมาะสมในการสนับสนุนการเจริญของโพรไบโอติกทั้งสามชนิดโดยการซ้อนทับแผนภูมิคอนทัวร์ที่ได้จากสมการแบบหุ่นจำลองการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก โดยกำหนดให้การเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 มีค่าไม่น้อยกว่า log 0.26, 0.3 และ 0.75 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่กำหนดเป็นค่าการเจริญของโพรไบโอติกแต่ละชนิดในระดับที่สูงทั้งนี้เพื่อให้ได้บริเวณที่มีการเจริญของโพรไบโอติกสูงที่สุด โดยบริเวณของแผนภูมิคอนทัวร์ที่เหมาะสมที่สุดคำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 คือ บริเวณที่ประกอบด้วยอินนูลิน ร้อยละ 0-0.26 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ร้อยละ 0.36-1 และไอโซมอล-โตโอลิโกแซคาไรด์ ร้อยละ 0-0.54 (บริเวณที่มีสีเหลือง, Figure 7) จากการทำนายด้วยแบบจำลองได้อัตราส่วนของพรีไบโอติกที่มีความเหมาะสมจำนวน 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 คือ S1 (11%I, 62%GOS, 27%IMO) สูตรที่ 2 คือ S2 (0%I, 64%GOS, 36%IMO) และสูตรที่ 3 คือ S3 (7%I, 93%GOS, 0%IMO) (Table 18) ซึ่งทั้ง 3 สูตรมีค่า desirability อยู่ในระดับที่สูง (0.938 - 0.952) เพื่อเป็นการยืนยันผลการทำนายสูตรดังกล่าว จึงทำการเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้งสามสายพันธุ์แบบกะในสูตรทั้งสามที่ทำนายได้ ผลปรากฏว่าการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 ในสูตรทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่มีการเจริญน้อยกว่าในสูตรที่มีกลูโคสเพียงอย่างเดียว ($p>0.05$)

เนื่องจากพรีไบโอติกทั้ง 3 สูตร ที่นำมาทดสอบนั้นมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกทั้งสามสายพันธุ์ ที่ไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) การตัดสินใจเลือกสูตรจึงประเมินจากต้นทุนของสารพรีไบโอติกแต่ละชนิด โดยพรีไบโอติกที่มีราคาสูงที่สุด คือ กาแลคโตโอลิโกแซค-คาไรด์ ดังนั้น ผู้วิจัยจึงเลือกสูตรที่มีอัตราส่วนของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์น้อยที่สุด คือ สูตรที่ 1 ซึ่งมีอินนูลิน กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ร้อยละ 11, 62 และ 27 ตามลำดับ ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

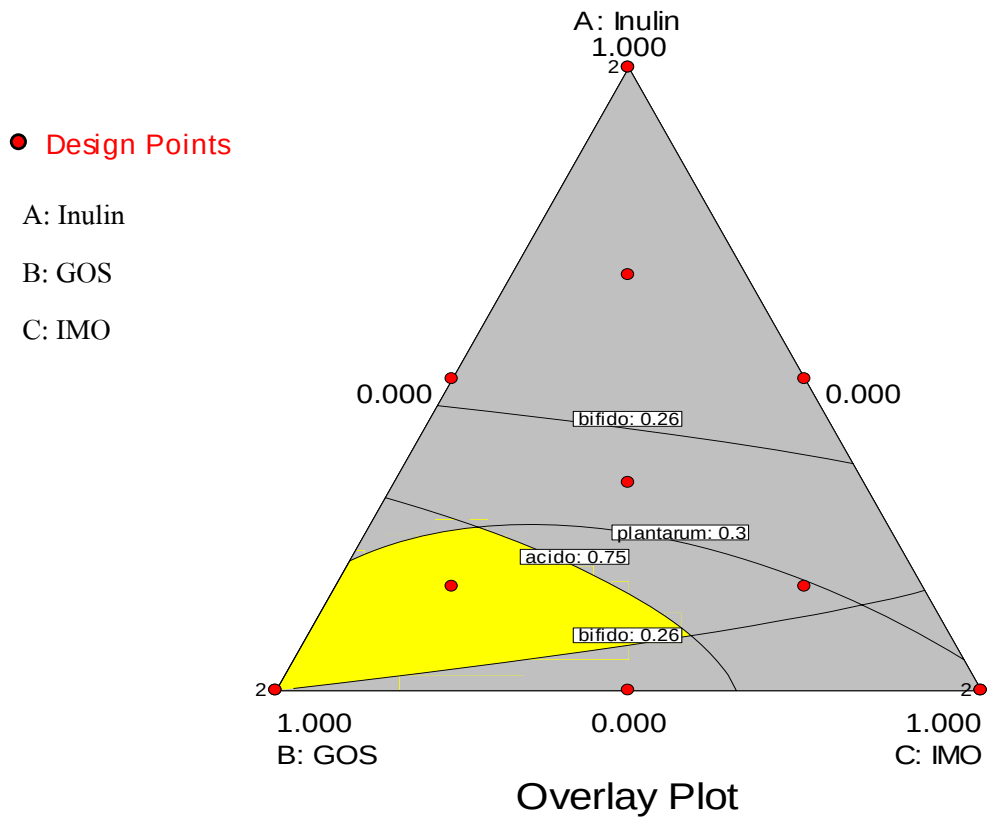


Figure 7. Over lay plot of optimum region (yellow shade) that contains 0-0.26%I, 0.36-1%GOS and 0-0.54%IMO which set the limit of *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 and *L. acidophilus* TISTR 1034 growth at least log 0.26, 0.3 and 0.75, respectively.

Table 18. The optical density* of probiotic bacteria cultured with three optimized prebiotics formulations and glucose

Formulation	*B. bifidum* DSM 20456	*L. plantarum* TISTR 875	*L. acidophilus* TISTR 1034
S1 (0.11I + 0.62GOS + 0.27IMO)	0.28 ± 0.00^{b}	0.31 ± 0.00^{b}	0.38 ± 0.01^{b}
S2 (0.00I + 0.64GOS + 0.36IMO)	0.28 ± 0.00^{b}	0.32 ± 0.01^{b}	0.39 ± 0.01^{b}
S3 (0.07I + 0.93GOS + 0.00IMO)	0.28 ± 0.00^{b}	0.32 ± 0.01^{b}	0.39 ± 0.00^{b}
Glucose	0.29 ± 0.00^{a}	0.34 ± 0.01^{a}	0.43 ± 0.01^{a}

* Values are mean optical density ± S.D. for *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 after 48 h fermentation and *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 after 24 h fermentation.

[a-b] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

5. การส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกโดยพรีไบโอติกอัตราส่วนที่เหมาะสม

การเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในขั้นตอนนี้ได้รายงานในรูปของจำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตรเพื่อต้องการรายงานรูปแบบของการเจริญให้ชัดเจนขึ้น จากการเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกด้วยพรีไบโอติกอัตราส่วนที่เหมาะสม 1 สูตร (11%I, 62%GOS, 27%IMO) ซึ่งได้คัดเลือกมาจากหัวข้อที่ 3 สามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 ดังแสดงใน Table 19 โดยมีกลูโคสเป็นสูตรควบคุม พบว่าการเจริญของโพรไบโอติกทุกสายพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นทั้งในพรีไบโอติกอัตราส่วนที่เหมาะสม (11%I, 62%GOS, 27%IMO) และสูตรควบคุมนั้นไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) เมื่อแบคทีเรียโพรไบโอติกทุกสายพันธุ์เจริญถึงระยะคงที่ ซึ่งแบคทีเรีย *B. bifidum* DSM 20456 เจริญถึงระยะคงที่หลังจากการหมัก 48 ชั่วโมง สำหรับ *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 เจริญถึงระยะคงที่หลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง พรีไบโอติกอัตราส่วนที่เหมาะสมกระตุ้นการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456 จากปริมาณเชื้อเริ่มต้น 6.58 log CFU/ml เพิ่มขึ้นเป็น 7.54 log CFU/ml (หลังจากการหมัก 48 ชั่วโมง) กระตุ้นการเจริญของ *L. plantarum* TISTR 875 จาก 6.59 log CFU/ml เพิ่มขึ้นเป็น 8.65 log CFU/ml (หลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง) และกระตุ้นการเจริญของ *L. acidophilus* TISTR 1034 จาก 6.83 log CFU/ml เพิ่มขึ้นเป็น 8.44 log CFU/ml (หลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง) จำนวนของแบคทีเรีย *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L.*

acidophilus TISTR 1034 ที่เพิ่มขึ้นคือ log 0.96, log 2.06 และ log 1.61 ตามลำดับ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *L. plantarum* TISTR 875 เจริญได้ดีกว่าและเร็วกว่า *L. acidophilus* TISTR 1034 ตามมาด้วย *B. bifidum* DSM 20456 สาเหตุที่ *B. bifidum* DSM 20456 เจริญได้น้อยที่สุดนั้นเป็นเพราะแบคทีเรียพวก bifidobacteria มีความไวต่อออกซิเจนจึงเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายของแบคทีเรียดังกล่าว (Shimamura *et al*., 1992) จากการศึกษาของ Huebner และคณะ (2007) ซึ่งได้ศึกษาการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน คือ กลูโคส อินนูลิน ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่า *B. bifidum* NCI สามารถเจริญได้น้อยกว่า *L. acidophilus* NCFM และ *L. plantarum* 4008 จากการเลี้ยงในทุกแหล่งคาร์บอน ($p<0.05$) การเจริญที่แตกต่างกันของโพรไบโอติกอาจจะมีสาเหตุมาจากการมีเอนไซม์และความจำเพาะในการใช้สารตั้งต้นที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์มีความสัมพันธ์กับกระบวนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้โครงสร้างของคาร์โบไฮเดรตเองก็มีผลต่อการถูกย่อยด้วยเช่นกัน (Lunn and Buttriss, 2007) ซึ่งสมบัติทางเคมีกายภาพของคาร์โบไฮเดรตที่แตกต่างกันนั้นยังมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการหมัก โดยขนาดของอนุภาคคาร์โบไฮเดรต และระดับความสามารถในการละลาย (degree of solubility) มีผลอย่างมากต่อความไวในการย่อยคาร์โบไฮเดรตที่จะถูกหมักโดยจุลินทรีย์ เนื่องจากทั้งสองปัจจัยจะเป็นตัวกำหนดพื้นที่ผิวสัมผัสของคาร์โบไฮเดรตที่จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรีย (Gibson, 2004)

Table 19. Growth of probiotic bacteria* in the batch culture fermentation supplemented with the optimized prebiotics formulation

Formulation	*B. bifidum* DSM 20456		Increased number	*L. plantarum* TISTR 875		Increased number	*L. acidophilus* TISTR 1034		Increased number
	0 h	48 h		0 h	24 h		0 h	24 h	
Optimized**	6.58 ± 0.09[a]	7.54 ± 0.07[a]	0.96	6.59 ± 0.14[a]	8.65 ± 0.07[a]	2.06	6.83 ± 0.03[a]	8.44 ± 0.04[a]	1.61
Glucose	6.63 ± 0.03[a]	7.75 ± 0.10[a]	1.12	6.63 ± 0.09[a]	8.67 ± 0.07[a]	2.04	6.82 ± 0.03[a]	8.67 ± 0.06[a]	1.85

* Values are mean log CFU/ml ± S.D. for *Bifidobacterium bifidum* DSM 20456 at 48 h fermentation and *Lactobacillus plantarum* TISTR 875 and *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 at 24 h fermentation.

** Optimized prebiotics formulations (11%I, 62%GOS, 27%IMO).

[a] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

6. สมบัติทางเคมี กายภาพ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม

6.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติก

องค์ประกอบทางโภชนาการของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบ-โอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมแสดงดัง Table 20 ซึ่งองค์ประกอบทางโภชนาการดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองข้างต้นที่กล่าวมาแล้วในหัวข้อ 2.1 นมถั่วเหลืองสูตรจำลองมีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่าสูตรเสริมพรีไบโอติก ($p<0.05$) โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.18 และ 2.72 ตามลำดับ และมีปริมาณไขมันร้อยละ 1.52 และ 1.22 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณโปรตีนและไขมันดังกล่าวผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ที่กำหนดไว้ว่าจะต้องมีโปรตีนและไขมันจากถั่วเหลืองไม่น้อยกว่าร้อยละ 2 และ 1 ของน้ำหนัก ตามลำดับ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2543) องค์การอาหารและยาของอเมริกา (Food and Drug Administration, FDA, 1999) แนะนำว่าการบริโภคโปรตีนถั่วเหลือง 25 กรัมต่อวันเป็นประจำทุกวัน จะช่วยลดความเสี่ยง

ของโรคเส้นเลือดหัวใจตีบ (coronary heart disease, CHD) เพื่อให้ได้รับปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองถึงระดับที่แนะนำนี้จะต้องรับประทานนมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสมนี้อย่างน้อย 5 กล่อง (ขนาดรับประทาน 200 มิลลิลิตร) ต่อวัน นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไอโซฟลาโวนสูงกว่านมถั่วเหลืองสูตรจำลอง ($p<0.05$) โดยปริมาณไอโซ-ฟลาโวนในนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม คือ 13.26 และ 16.65 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด ความข้นหนืด และค่าสี CIE L^*, a^* และ b^* ของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติกในอัตราส่วนที่เหมาะสม แสดงดัง Table 20 นมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกยังมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด และความข้นหนืดมากกว่าสูตรจำลอง ($p<0.05$) นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีค่าความสว่าง (L*) ต่ำกว่า และมีค่าสีแดง-สีเขียว (a*) สูงกว่านมถั่วเหลืองสูตรจำลอง ซึ่งค่าความสว่างที่ลดลงและค่าสีแดงที่เพิ่มขึ้นของนมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกนี้ เนื่องจากเมื่อให้ความร้อนแก่นมถั่วเหลืองทำให้เกิดสารที่ให้สีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Kwok *et al*., 1999) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการเติมสารพรีไบโอติกลงไปทำให้เกิดปฏิกิริยาดังกล่าว จากการรายงานของ Huebner และคณะ (2008) พบว่าเมื่อทำให้ Raftilose P95 และ NutraFlora P-95 เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ด้วยการให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส ที่เวลา 0-3 ชั่วโมง ก็จะเห็นได้ว่ามีสีน้ำตาลเกิดขึ้น สีน้ำตาลที่เกิดจะมีความเข้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้เวลาในการให้ความร้อนที่นานขึ้น ($p<0.05$) ซึ่งสารพรีไบโอติกสองชนิดนี้ประกอบด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 95 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือคือ ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส ซึ่งกลูโคสและฟรุกโตสเป็นน้ำตาลรีดิวซิ่งมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลขึ้นได้ นอกจากนี้ Raftilose P95 ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ FF_n เป็นส่วนใหญ่ โดยที่ตรงส่วนปลายมีหน่วยของฟรุกโตส ซึ่งมีความสามารถในการรับอิเล็คตรอนดังนั้นจึงมีส่วนสำคัญในการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด พรีไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ อินนูลิน (Frutafit® HD) ซึ่งประกอบด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 90 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือคือ ซูโครส กลูโคส และฟรุกโตส กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligomate55) ซึ่งประกอบด้วยกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 55 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือคือ กลูโคส และแลคโตส และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Biotose50) ซึ่งประกอบด้วยไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 50 คาร์โบไฮเดรตส่วนที่เหลือ คือ มอลโตส และกลูโคส (Cummings *et al*., 2001; Macfarlane *et al*., 2006) ดังนั้นพรีไบโอติกที่เติมลงไปจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดและเกิดสีน้ำตาลในนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกดังกล่าว อย่างไรก็ตามค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b*) ของนมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$)

Table 20. Chemical and physical properties of mocked-up and prebiotic supplemented soybean milk (per 100 g)

	Mocked-up soybean milk*	Prebiotic supplemented soybean milk*
Protein (N×6.25) (%)	3.18 ± 0.03[a]	2.72 ± 0.02[b]
Fat (%)	1.52 ± 0.02[a]	1.22 ± 0.07[b]
Carbohydrates (%)	7.83	12.04
Ash (%)	0.73 ± 0.03[a]	0.67 ± 0.04[a]
Fibre (%)	0.05 ± 0.07[a]	0.05 ± 0.09[a]
Total soluble solid (°Brix)	13 ± 0	17 ± 0
Total solid content (%)	13.26 ± 0.01[b]	16.65 ± 0.01[a]
Viscosity (cP)	15.17 ± 0.06[b]	17.37 ± 0.06[a]
Color CIE L^* value	86.88 ± 0.01[a]	85.05 ± 0.07[b]
a^* value	0.91 ± 0.05[b]	1.98 ± 0.08[a]
b^* value	16.82 ± 0.02[a]	16.90 ± 0.05[a]
Isoflavone** (mg/100ml)	13.26	16.65

* Mean ± SD of triplicate determinations.

** Total isoflavone = glycitin + genistin + daidzein + glycitein + genistein.

[a-b] The same letters under the same row indicate no significant differences ($p>0.05$).

6.2 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติก

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติกทั้ง 6 คุณลักษณะ คือ สี ความหนืด กลิ่นรสถั่ว ความหวาน ความข้นหนืด และรสหวาน (ในปากและคอ) โดยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน พบว่านมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรนี้ไม่มีความแตกต่างกันในด้านสี ความหนืด และกลิ่นรสถั่ว ($p>0.05$) แต่พบว่านมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกมีความหวาน และรสหวาน (ในปากและคอ) มากกว่าสูตรจำลอง ($p<0.05$) (Table 21) ถึงแม้ว่านมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรนี้มีปริมาณน้ำตาลเท่ากันคือร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทั้งนี้เป็นเพราะพรีไบโอติกที่เติมลงไปในนมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกปริมาณร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นั้นเป็นส่วนประกอบที่เพิ่มความหวานของนมถั่วเหลืองสูตรดังกล่าวและทำให้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนสามารถรับรู้ถึงระดับความความหวานที่

เพิ่มขึ้นได้ ซึ่งอินนูลิน กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความหวานประมาณร้อยละ 30-60 ของน้ำตาลซูโครส (Belitz *et al*., 2004) นอกจากนี้นมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกยังมีความข้นหนืดมากกว่านมถั่วเหลืองสูตรจำลองเนื่องจากพรีไบโอติกที่เติมลงไปเป็นสารเพิ่มความข้นหนืดให้แก่นมถั่วเหลืองโดยเฉพาะอย่างยิ่งอินนูลินที่มีค่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (degrees of polymerization, DP) ที่สูงกว่าตัวอื่นๆ หรือมีสายพอลิเมอร์ที่ยาวกว่านั่นเอง ซึ่งมีอิทธิพลในการเพิ่มความข้นหนืดได้มากที่สุด ดังที่ได้กล่าวไว้ในหัวข้อ 3.1.1

6.3 การลดปริมาณน้ำตาลในสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

เนื่องจากการหาแนวความคิดผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุที่ได้จากการสัมภาษณ์เชิงลึกผู้บริโภคสูงอายุ (อายุ 60 ปีขึ้นไป) ในขั้นต้น (หัวข้อที่ 2) ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีแนวความคิดด้านความหวานคือหวานน้อย หรือที่ระดับความหวานของนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง แต่นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่ได้ (จากหัวข้อที่ 4) มีระดับความหวานที่มากกว่าระดับความหวานที่ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายต้องการ ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องลดปริมาณน้ำตาลในสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกเพื่อให้ระดับความหวานในสูตรดังกล่าวลดลงให้อยู่ในระดับเดียวกับนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง และเนื่องจากพรีไบโอติกทั้ง 3 ชนิดที่นำมาศึกษานี้มีระดับความหวานอยู่ในช่วงร้อยละ 30-60 ของน้ำตาลซูโครส (Belitz *et al*., 2004) จึงทำการทดลองลดปริมาณน้ำตาลในนมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกลงจากร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นร้อยละ 2.6 ซึ่งปริมาณน้ำตาลร้อยละ 2.6 ซึ่งได้จากการคำนวณเปรียบเทียบระดับความหวานของสารพรีไบโอติกเป็นร้อยละ 60 ของน้ำตาลซูโครส การลดปริมาณน้ำตาลในสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกนั้น นอกจากจะเป็นการลดระดับความหวานให้ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายแล้ว ยังเป็นการช่วยให้ผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมายลดการบริโภคน้ำตาลที่เป็นสาเหตุของโรคอ้วน และผู้ที่เป็นโรคเบาหวานที่ต้องการควบคุมการบริโภคน้ำตาลได้อีกด้วย ซึ่งจากการศึกษาของ Mabel และคณะ (2008) ที่ศึกษาในหนูทดลองโดยการทำให้หนูทดลองเป็นโรคเบาหวานและให้หนูทดลองได้รับฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ร้อยละ 5 และร้อยละ 10 ต่อวันเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าการได้รับฟรุกโตโอลิโกแซคาไรด์ดังกล่าวไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงและไม่พบน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะในหนูทดลองที่เป็นโรคเบาหวานถึงแม้ว่าจะได้รับที่ระดับร้อยละ 10 ก็ตาม

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทั้ง 6 คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลองซึ่งมีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 5 สูตรเสริมพรีไบโอติกที่มีปริมาณน้ำตาลร้อยละ 5 และสูตรเสริมพรีไบโอติกที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือแค่ร้อยละ 2.6 ด้วยผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน พบว่าคุณลักษณะด้านสี ความหนืด (ลักษณะปรากฏ) และกลิ่นรสถั่วไม่แตกต่างกัน

ทั้ง 3 สูตร ($p>0.05$) ในขณะที่ความหวาน ความข้นหนืด และรสหวาน (ในปากและคอ) ของนมถั่วเหลืองสูตรจำลองและสูตรเสริมพรีไบโอติกที่ลดปริมาณน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) (Table 21) แต่มีคะแนนของคุณลักษณะดังกล่าวต่ำกว่าสูตรเสริมพรีไบโอติกที่มีน้ำตาลร้อยละ 5 ซึ่งหมายความว่าการลดปริมาณน้ำตาลในสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกนั้นทำให้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกฝนรับรู้ถึงระดับความหวาน และรสหวานในปากรสหวาน (ในปากและคอ) ของนมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรได้ไม่แตกต่างกัน ดังนั้น ผู้วิจัยจึงคัดเลือกสูตรนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือแค่ร้อยละ 2.6 ไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

Table 21. Average scores* of mocked-up soybean milk, prebiotic supplemented soybean milk and prebiotic supplemented soybean milk with reduced sugar

Treatment	Appearance		Flavor		Texture	Aftertaste
	Color	Thickness	Beany flavor	Sweetness	Viscosity	Sweetness
Mocked-up	8.10[a]	3.90[a]	3.00[a]	5.70[b]	2.55[b]	4.40[b]
Prebiotics with 5% sugar	7.90[a]	4.00[a]	2.80[a]	8.90[a]	3.70[a]	7.20[a]
Prebiotics with 2.6% sugar	8.15[a]	3.75[a]	3.10[a]	5.80[b]	2.70[b]	4.50[b]

* Scale = 15 cm, 1.25 = weak, 13.75 = strong.

[a] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

Mocked-up = Mocked-up soybean milk (5% sugar).

Prebiotics with 5% sugar = Prebiotic supplemented soybean milk added with 5% sugar.

Prebiotics with 2.6% sugar = Prebiotic supplemented soybean milk with reduced sugar to 2.6%.

7. การศึกษาผลการเก็บรักษาต่อคุณภาพของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

7.1 คุณภาพทางเคมีและกายภาพ

ลักษณะทางกายภาพของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 (ซึ่งได้จากหัวข้อ 6.3) และนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 สูตรควบคุม (ไม่เติมคาราจีแนน) แสดงดัง Table 22 นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีความหนืดมากกว่านมถั่วเหลืองสูตรควบคุมเล็กน้อย ($p<0.05$) นอกจากนี้มีค่าความสว่าง (L*) และค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน (b*) น้อยกว่า และมีค่าสีแดง-สีเขียว (a*) มากกว่าเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ($p<0.05$) ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมดและพีเอชของนมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรนี้มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$)

Table 22. Physical properties of prebiotic supplemented soybean milk and control soybean milk (no containing carrageenan)

	Prebiotic supplemented soybean milk*	Control soybean milk*
Total soluble solid (°Brix)	17 ± 0	17 ± 0
Total solid content (%)	16.65 ± 0.01[a]	16.65 ± 0.00[a]
pH	6.62 ± 0.00[a]	6.62 ± 0.01[a]
Viscosity (cP)	19.67 ± 0.06[a]	19.17 ± 0.06[b]
Color CIE L^* value	84.58 ± 0.05[b]	84.88 ± 0.06[a]
a^* value	0.34 ± 0.04[a]	0.08 ± 0.08[b]
b^* value	18.59 ± 0.02[b]	18.83 ± 0.02[a]

* Means ± standard deviations of triplicate determinations.

[a-b] The same letters under the same row indicate no significant differences ($p>0.05$).

ปัญหาที่สำคัญในการผลิตนมถั่วเหลืองประการหนึ่งคือความไม่คงตัวของนมภายหลังจากการให้ความร้อนซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีการแยกชั้นและมีตะกอนเกิดขึ้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะปรากฏที่ไม่ดี ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ดัชนีการแยกชั้น (Separation index) ของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกและนมถั่วเหลืองสูตรควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส มีค่าเป็น 1.00 และ 0.99 ตามลำดับ (Table 23) ค่าดัชนีการแยกชั้นนี้บ่งบอกถึงความคงตัวของสารแขวนลอยที่สามารถมองเห็นได้ด้วยสายตา ซึ่งได้จากการสังเกตการแยกชั้นระหว่างนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านบนและตะกอนที่อยู่ด้านล่างหลังจากที่วางทิ้งให้อยู่นิ่งไว้ ถ้ามีการแยกชั้นเกิดขึ้นก็จะคำนวณดัชนีการแยกชั้นได้จากอัตราส่วนของความสูงของนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านบนไม่รวมตะกอนต่อความสูงทั้งหมด (ความสูงของนมถั่วเหลืองและตะกอน) ถ้าไม่มีการแยกชั้นเกิดขึ้นดัชนีการแยกชั้นจะมีค่าเป็น 1.00 (Priepke *et al*., 1980) ดังนั้นนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกไม่มีการตกตะกอนในขณะที่นมถั่วเหลืองสูตรควบคุมมีการตกตะกอนเล็กน้อยหลังการเก็บรักษา 7 วัน โดยตะกอนของนมถั่วเหลืองสูตรควบคุมนั้นมีลักษณะเป็นผงสีขาว ซึ่งเป็นตะกอนของแคลเซียมที่เติมลงไป

Table 23. Suspension stability* of prebiotic supplemented soybean milk and control soybean milk (no containing carrageenan) at 1ºC for 28 days quiescent storage

Day	Separation index		Suspension stability index	
	Prebiotic supplemented soybean milk	Control soybean milk	Prebiotic supplemented soybean milk	Control soybean milk
7 days	1.00 ± 0.00	0.99 ± 0.01	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
14 days	1.00 ± 0.00	0.99 ± 0.01	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01
21 days	1.00 ± 0.00	0.99 ± 0.00	0.99 ± 0.01	0.99 ± 0.01
28 days	1.00 ± 0.00	0.99 ± 0.00	0.99 ± 0.00	0.98 ± 0.01

* Means ± standard deviations of triplicate determinations.

ดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย (Suspension stability index) บ่งบอกถึงการกระจายตัวของปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมถั่วเหลืองหลังจากการวางทิ้งไว้ โดยสามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของปริมาณของแข็งทั้งหมดด้านบน (หนึ่งในสามส่วนที่อยู่ด้านบน) และด้านล่าง (หนึ่งในสามส่วนที่อยู่ด้านล่าง) ของนมถั่วเหลือง (Hinds *et al*., 1997a) โดยพบว่าดัชนีความคงตัว

ของสารแขวนลอยของนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกและชุดควบคุมเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน ซึ่งจากการเก็บรักษานมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรเป็นเวลา 14 วัน ปริมาณของแข็งทั้งหมดของนมถั่วเหลืองที่อยู่บริเวณด้านบนและบริเวณด้านล่างนั้นมีปริมาณที่เท่ากัน นั่นก็หมายความว่านมถั่วเหลืองไม่มีการตกตะกอนบริเวณก้นภาชนะ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน นมถั่วเหลืองทั้งสองสูตรเริ่มมีการตกตะกอน อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บเป็นเวลา 28 วัน นมถั่วเหลืองสูตรควบคุมมีการตกตะกอนมากกว่านมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติก แต่ค่าดังกล่าวแสดงการตกตะกอนของผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ทั้งนี้เป็นเพราะว่านมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีการเติมแคปป้าคาราจีแนนร้อยละ 0.015 ลงไปทำให้นมถั่วเหลืองมีความคงตัวเพิ่มมากขึ้นนั่นเอง สอดคล้องกับการศึกษาของ Hinds และคณะ (1997b) พบว่าการเติมคาราจีแนนในนมถั่วลิสงพาสเจอร์ไรซ์ในปริมาณที่สูงขึ้น (0.02-0.04%) มีผลให้เพิ่มความข้นหนืดและความคงตัวของสารแขวนลอย ทำให้ค่าดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอยสูงขึ้น ($p<0.05$) แคปป้าคาราจีแนนมีโครงสร้างที่ประกอบไปด้วยน้ำตาลกาแลคโตสที่มีกลุ่มซัลเฟต (D-galactose-4-sulfate) และแอนไฮโดรกาแลคโตส (3,6-anhydro-D-galactose) (FAO, 2001) โดยสภาพที่โมเลกุลมีกลุ่มซัลเฟต (SO_3^-) อยู่มาก จึงทำให้คาราจีแนนมีความเป็นประจุลบสูง ซึ่งกลไกการเกิด เจลของคาราจีแนนจะต้องอาศัยความร้อนและโพแทสเซียมอิออน (K^+) การเกิดเจลจะทำให้สารละลายมีความข้นหนืดเพิ่มมากขึ้น แต่ทั้งนี้การเพิ่มขึ้นของความหนืดจะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของคาราจีแนนด้วย (Whistler and Daniel, 1990) นอกจากนี้หมู่ซัลเฟตยังมีผลต่อการเชื่อมต่อกันเป็นโครงข่ายและเกิดเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนของโปรตีนและพอลิแซคคาไรด์ (protein-polysaccharide complexes) (Shand *et al*., 1994) ด้วยเหตุนี้จึงทำให้นมถั่วเหลืองมีความคงตัวเพิ่มมากขึ้น

Priepke และคณะ (1980) กล่าวว่ามีวิธีการในการป้องกันการแยกชั้นในสารแขวนลอย 2 วิธี คือ การกำจัดของแข็งที่สามารถตกตะกอนได้โดยการกรองหรือการเหวี่ยงแยก และการเติมสารให้ความคงตัว ถึงแม้ว่าการเหวี่ยงแยกจะช่วยปรับปรุงเรื่องความคงตัวของสารแขวนลอยได้แต่วิธีการนี้ทำให้โปรตีนบางส่วนสูญเสียไป จากการศึกษาของ Priepke และคณะ (1980) พบว่านมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งแตกต่างกัน (ร้อยละ 2.39-8.85) ซึ่งทำให้มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 1.2-4.3 หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 5 วัน พบว่านมถั่วเหลืองทั้งหมดไม่มีการแยกชั้นเกิดขึ้นหรือมีค่าดัชนีการแยกชั้นเท่ากับ 1.0 นอกจากนี้พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดจะมีอิทธิพลต่อความคงตัวของสารแขวนลอยในนมถั่วเหลือง โดยดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอยมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้น ดังนั้นนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งน้อยกว่าจะเกิดการตกตะกอนได้มากกว่านมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งมากกว่า จากการศึกษาในครั้งนี้ทั้งตัวอย่างนมถั่วเหลือง

เสริมพรีไบโอติกและชุดควบคุมมีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 16.65 ซึ่งนับว่ามีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่สูงมาก จึงน่าจะเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ช่วยให้ตัวอย่างทั้งสองมีความคงตัวของสารแขวนลอยที่ดี

นอกจากนี้ความข้นหนืดและความคงตัวของสารแขวนลอยของนมถั่วเหลืองจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปเพิ่มสูงขึ้น (Priepke *et al*., 1980; Nsofor and Anyanwu, 1992 อ้างโดย Hinds *et al*., 1997a) โดยการศึกษาของ Schmidt และคณะ (1980) พบว่าความคงตัวของสารแขวนลอยของนมที่เติมถั่วลิสงจะเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อนมากกว่าหรือเท่ากับ 85 องศาเซลเซียส (Hinds *et al*., 1997a) การสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) และการรวมตัว (aggregation) ของโมเลกุลโปรตีนนั้นเป็นกระบวนการที่ขึ้นอยู่กับความร้อน (Gossett *et al*., 1984) จากการศึกษาของ Hinds และคณะ (1997a) พบว่าการผลิตนมถั่วลิสงที่เติมคาราจีแนนร้อยละ 0.02 (แคปป้า : ไอออต้า คาราจีแนน = 3 : 1) และโฮโมจิไนซ์ที่ 20.7 × 10^6 Pa แล้วให้ความร้อนที่แตกต่างกันคือ 72 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที หรือ 111 องศาเซลเซียส นาน 8 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าตัวอย่างที่ให้ความร้อนสูงกว่า (111 องศาเซลเซียส) มีค่าดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย และดัชนีการแยกชั้นสูงกว่าตัวอย่างที่ให้ความร้อนต่ำกว่า ($p<0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าการพาสเจอร์ไรส์นมถั่วลิสงที่อุณหภูมิมากกว่า 82 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที หรือใช้เวลาในการให้ความร้อนมากกว่า 2 นาที จะทำให้เกิดเจลของโปรตีนและเกิดโครงสร้างเชิงซ้อนที่ชอบน้ำของโปรตีนและไขมัน (hydrophilic protein-lipid complexes)

7.2 การเก็บรักษาต่อคะแนนความชอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

ผลการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก (สูตรลดปริมาณน้ำตาลเหลือร้อยละ 2.6 ซึ่งได้จากหัวข้อ 6.3) และชุดควบคุมที่อุณหภูมิตู้เย็น (1±1 องศาเซลเซียส) ต่อคะแนนความชอบผลิตภัณฑ์ได้ผลดัง Table 24 พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อคุณลักษณะด้านลักษณะปรากฏและสีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ($p>0.05$) โดยมีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่นรสถั่วและความชอบโดยรวมมีคะแนนลดลงภายหลังการเก็บรักษา 25 วัน โดยอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก และการเก็บรักษา 30 วัน มีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย

Table 24. Liking scores* of prebiotic supplemented soybean milk which stored at 1 ºC for 30 days.

Day	Attributes			
	Appearance	Color	Beany flavor	Overall
0	7.55 ± 1.00^{a}	7.58 ± 0.77^{a}	8.02 ± 0.59^{a}	7.88 ± 0.69^{a}
5	7.20 ± 0.96^{a}	7.30 ± 0.95^{a}	7.87 ± 0.63^{a}	7.87 ± 0.63^{a}
10	7.57 ± 0.73^{a}	7.63 ± 0.72^{a}	7.87 ± 0.63^{a}	7.70 ± 0.53^{a}
15	7.60 ± 0.62^{a}	7.53 ± 0.57^{a}	7.65 ± 0.66^{a}	7.68 ± 0.59^{a}
20	7.43 ± 0.77^{a}	7.33 ± 0.88^{a}	7.62 ± 0.72^{a}	7.50 ± 0.68^{ab}
25	7.60 ± 0.89^{a}	7.63 ± 0.72^{a}	7.03 ± 1.00^{b}	7.27 ± 0.69^{b}
30	7.20 ± 0.92^{a}	7.30 ± 1.06^{a}	6.03 ± 1.38^{c}	6.37 ± 1.22^{c}

*Values are the means ± SD from 30 panelists, Different superscripts in the same column indicate significant differences (p<0.05).

เมื่อพิจารณาคุณลักษณะทั้งหมดที่ทำการทดสอบจะพบว่าคุณลักษณะด้านกลิ่นเป็นปัจจัยแรกที่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจนจนทำให้ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบน้อยลง ซึ่งมีผลให้คะแนนความชอบโดยรวมลดลง (p<0.05) ดังนั้นถ้าหากพิจารณาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกจากการทดสอบด้วยผู้บริโภค ก็จะสามารถสรุปได้ว่าผู้บริโภคจะยังคงมีความชอบในทุกคุณลักษณะตั้งแต่ระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลางตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน

7.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

การกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นั้น จำเป็นต้องทำการทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาเพื่อหาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำนมถั่วเหลืองกำหนดเกณฑ์มาตรฐานไว้ว่า น้ำนมถั่วเหลืองพาสเจอร์ไรส์จะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) ไม่เกิน 1 x 10^{4} CFU/ml (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2547) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ณ เริ่มต้น คือ น้อยกว่า 30 CFU/ml และจากการทดสอบหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทุกวันเป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 30 ยังคงมีจำนวนน้อยกว่า 30

CFU/ml ดังนั้นผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกจึงมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานกำหนดตลอดการเก็บรักษา 30 วัน

8. การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

เมื่อนำผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาล (น้ำตาลร้อยละ 2.6) ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณน้ำตาลน้อยแต่มีระดับความหวานเท่ากับสูตรจำลอง (น้ำตาลร้อยละ 5) ที่ได้จากขั้นตอนการหาแนวความคิดของผู้บริโภคสูงอายุ (ข้อ 2) มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคสูงอายุในจังหวัดสงขลา จำนวน 200 คน โดยทำการสอบถามเพื่อหาข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับผู้บริโภค พฤติกรรมการซื้อและการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง ความชอบที่ผู้บริโภคมีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาลในปัจจัยคุณภาพต่างๆ ได้แก่ ความชอบโดยรวม สี กลิ่นรสถั่ว รสชาติ (ความหวาน) และความข้นหนืด และการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสูตรที่ลดปริมาณน้ำตาล ได้ผลดังนี้

8.1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์ของผู้บริโภค

ลักษณะทางประชากรศาสตร์ของผู้บริโภคสูงอายุในจังหวัดสงขลาที่ทดสอบผลิตภัณฑ์ จำนวน 200 คน แสดงดัง Table 25 โดยผู้บริโภคเป็นเพศชาย ร้อยละ 14.5 เพศหญิง ร้อยละ 85.5 ซึ่งเป็นผู้ที่มีอายุอยู่ในช่วง 60 – 64 ปี มากที่สุดคือร้อยละ 46.5 รองลงมาอยู่ในช่วงอายุ 65 – 69 ปี คิดเป็นร้อยละ 21 ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีสถานภาพสมรส (ร้อยละ 56) และเป็นหม้าย (ร้อยละ 31.5) การศึกษาของผู้บริโภคส่วนใหญ่อยู่ในระดับประถมศึกษา (ร้อยละ 32) รองลงมาคือ ระดับปริญญาตรี มัธยมปลายและมัธยมต้น ร้อยละ 18.5, 15.5 และ 14 ตามลำดับ โดยผู้บริโภคเพศชายส่วนใหญ่มีอาชีพประกอบธุรกิจส่วนตัว (ร้อยละ 6.5) และข้าราชการบำนาญ (ร้อยละ 5) ผู้บริโภคเพศหญิงส่วนใหญ่เป็นแม่บ้าน (ร้อยละ 57) และข้าราชการบำนาญ (ร้อยละ 14) ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีรายได้ต่อเดือนน้อยกว่า 5,000 บาท คิดเป็นร้อยละ 31.5 รองลงมาคือมีรายได้ต่อเดือนอยู่ในช่วง 5,001 – 10,000 บาท (ร้อยละ 26) และพบว่าผู้บริโภคที่มีรายได้ต่อเดือนมากกว่า 25,000 บาท มีจำนวนร้อยละ 14.5

Table 25. Demographic and socioeconomic characteristics of elderly consumer for consumer test of prebiotic supplemented soybean milk

Demographic	Consumer Frequency (%) Total (N=200)
Sex	
Male	14.5
Female	85.5
Age	
60 – 64 years old	46.5
65 – 69 years old	21.0
70 – 74 years old	15.0
75 – 79 years old	14.0
Over 80 years old	3.5
Status	
Single	9.0
Married	56.0
Widowed	31.5
Divorced	3.5
Education	
Less than primary school	8.5
Primary school	32.0
Junior high school	14.0
Senior high school	15.5
Diploma	10.0
Bachelor degree	18.5
Master degree	1.0
Doctorate	0.5

Table 25. (Continued)

Demographics	Consumer Frequency (%) Total (N=200)
Career	
Pensioners	19.0
Government enterprise officials	2.0
Company officials	1.0
Housewife	57.0
Own business/Private sectors	18.0
Employee	2.5
Gardener / Farmer	0.5
Income	
Under 5,000 baht	31.5
5,001 – 10,000 baht	26.0
10,001 – 15,000 baht	14.0
15,001 – 20,000 baht	10.0
20,001 – 25,000 baht	4.0
Over 25,000 baht	14.5

8.2 พฤติกรรมการซื้อและการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

จากการทดสอบเกี่ยวกับพฤติกรรมการซื้อและการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองของผู้บริโภค ผลที่ได้แสดงดัง Table 26 พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองอยู่ในระดับปานกลาง (ร้อยละ 41.5) และชอบมาก (ร้อยละ 34.0) ผู้บริโภคส่วนใหญ่ดื่มนมถั่วเหลือง 3-4 ครั้งต่อสัปดาห์ คิดเป็นร้อยละ 47 และรองลงมาคือดื่มนมถั่วเหลืองทุกวัน คิดเป็นร้อยละ 22.5 และพบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองแบบร้อน (ร้อยละ 60) นอกจากนี้มีผู้บริโภคที่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองทั้งแบบร้อนและแบบเย็น ร้อยละ 22.5 โดยพบว่าผู้บริโภคร้อยละ 62.5 ชอบดื่มนมถั่วเหลืองในเวลาเช้า ซึ่งพบว่าผู้บริโภคโดยส่วนใหญ่ที่ดื่มนมถั่วเหลืองในเวลาเช้าจะชอบดื่มนมถั่วเหลืองแบบร้อน นอกจากนี้มีผู้บริโภคที่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองในเวลาเย็นและค่ำ ร้อยละ 19.5 และ 28.5 ตามลำดับ การบริโภคนมถั่วเหลืองของผู้บริโภคส่วนใหญ่จะดื่มเพื่อเป็นอาหารว่างและเครื่องดื่ม คิดเป็นร้อยละ 42.5 และ 39.5 ตามลำดับ

สำหรับการซื้อนมถั่วเหลืองมาบริโภคนั้นพบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ (ร้อยละ 73.5) จะซื้อมาด้วยตัวเอง ในขณะที่มีผู้บริโภคสูงอายุร้อยละ 36.5 ที่ลูกหลานเป็นคนซื้อมาให้ สถานที่ที่ผู้บริโภคส่วนใหญ่ซื้อนมถั่วเหลืองคือตลาดสดหรือรถเข็น (ร้อยละ 63.5) รองลงมาคือห้างสรรพสินค้า (ร้อยละ 36.5) รูปแบบบรรจุภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ซื้อพบว่าส่วนใหญ่จะซื้อแบบบรรจุถุง (พร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาด) และแบบกล่องกระดาษ (ยูเอชที) คิดเป็นร้อยละ 58.5 และ 41 ตามลำดับ และพบว่านมถั่วเหลืองที่ผู้บริโภคนิยมซื้อมาบริโภคมากที่สุดคือ นมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาด (บรรจุถุง ขายในตลาดสดหรือรถเข็น) (ร้อยละ 53.5) รองลงมาคือนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มยี่ห้อดีน่าและไวตามิลค์ (ยูเอชที) คิดเป็นร้อยละ 26.5 และ 19.5 ตามลำดับ

ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการซื้อและการบริโภคในขั้นตอนนี้ มีความสอดคล้องกับข้อมูลจากการอภิปรายกลุ่ม (Focus group) คือ ผู้บริโภคสูงอายุส่วนใหญ่ชอบดื่มนมถั่วเหลืองแบบร้อนซึ่งจะดื่มในเวลาเช้า การซื้อนมถั่วเหลืองมาบริโภคก็จะซื้อมาด้วยตัวเอง นมถั่วเหลืองที่ผู้บริโภคนิยมซื้อมาบริโภคมากที่สุดคือ นมถั่วเหลืองพร้อมดื่มที่จำหน่ายในตลาดหรือรถเข็น (บรรจุถุง) รองลงมาคือนมถั่วเหลืองพร้อมดื่มยูเอชที ยี่ห้อดีน่า (บรรจุกล่องกระดาษ)

Table 26. Soybean milk buying and consuming behavior of elderly consumer

Questions	Consumer responding (%) Total (N=200)
1. How do you like the soybean milk?	
Like extremely	17.0
Like very much	34.0
Like moderately	41.5
Like slightly	5.0
Dislike	2.5
2. How often do you drink the soybean milk?	
Everyday	22.5
5-6 times/week	15.0
3-4 times/week	47.0
Less than 3 times/week	15.5
3. What type of the soybean milk do you like?	
Hot	60.0
Cold	17.5
Both types	22.5
4. What time do you usually drink the soybean milk? (you can choose more than 1 answer)	
Morning	62.5
Late morning	11.0
Afternoon	15.0
Evening	19.5
Night	28.5

Table 26. (Continued)

Questions	Consumer responding (%) Total (N=200)
5. Which circumstance do you drink soybean milk? (you can choose more than 1 answer)	
Normal meal (e.g. breakfast)	21.0
Light meal	42.5
Drinks	39.5
6. Who buy the soybean milk for you? (you can choose more than 1 answer)	
One's self	73.5
Son / Daughter / Descendant	36.5
Others	2.0
7. Where do you buy the soybean milk? (you can choose more than 1 answer)	
Supermarket (e.g. Tesco Lotus, Carrefour)	36.5
Convenient store (e.g. 7-eleven)	17.5
Grocery store	9.5
Local market	63.5
Others	0.5
8. What kind of the soybean milk do you drink? (you can choose more than 1 answer)	
UHT carton boxes	41.0
UHT glass bottle	9.5
Pasteurization (plastic bottle)	3.0
Ready-to-drink (local market vender)	58.5
Powder	1.0

Table 26. (Continued)

Questions	Consumer responding (%) Total (N=200)
9. What is soybean milk brand name which you buy? (you can choose more than 1 answer)	
D-NA	26.5
Lactasoy	12.0
Vitamilk	19.5
V-soy	1.5
Local market vender	53.5
Others	0.5

นอกจากนี้ในการเลือกซื้อนมถั่วเหลืองมาบริโภคผู้บริโภคทั้งหมดให้ความสำคัญกับกับเหตุผลในการซื้อจากเหตุผลที่มีความสำคัญมากที่สุดจนถึงน้อยที่สุด ดังนี้ ราคา ความสะดวกในการเก็บ/อายุการเก็บรักษา ความสะดวกในการหาซื้อ ความสดใหม่ รสชาติและความเข้มข้นของน้ำนมถั่วเหลือง ความสะอาดและถูกสุขลักษณะ และคุณค่าทางอาหาร/ประโยชน์ต่อสุขภาพตามลำดับ โดยผู้บริโภคทั้งหมดให้ความสำคัญกับปัจจัยด้านความสะดวกในการหาซื้อและความสดใหม่ไม่แตกต่างกัน ให้ความสำคัญกับปัจจัยด้านรสชาติและความเข้มข้นของน้ำนมถั่วเหลืองและความสะอาดและถูกสุขลักษณะไม่แตกต่างกัน และให้ความสำคัญกับปัจจัยด้านความสะอาดและถูกสุขลักษณะและคุณค่าทางอาหาร/ประโยชน์ต่อสุขภาพไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ดังแสดงใน Table 27

Table 27. The importance ranking score for buying reasons of soybean milk

Reason	Rank sum* Total (N=200)
Taste and soybean concentration	586 (2.93[d])
Hygiene	540 (2.70[de])
Availability	882 (4.41[c])
Freshness	881 (4.41[c])
Nutrition value and Healthfulness	504 (2.52[e])
Price	1160 (5.80[a])
Ease for storage / Shelf-life	1046 (5.23[b])

* Number in parenthesis refers to average rank score.

The value are based on a 7 rank scale (1 = the most important and 7 = the least important).

[a-e] The same letters under the same column indicate no significant differences ($p>0.05$).

8.3 การยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

เมื่อผู้บริโภคทำการทดสอบความชอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก โดยวิธี Hedonic scale (9 คะแนน) ได้ผลดัง Table 28 พบว่าผู้บริโภคมีความชอบต่อผลิตภัณฑ์ในทุกด้านอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก โดยมีคะแนนความชอบในด้าน สี กลิ่นรสถั่ว ความหวาน ความข้นหนืด และความชอบโดยรวม เฉลี่ย 7.44, 7.41, 7.42, 7.46 และ 7.38 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความถี่ของช่วงคะแนนต่อปัจจัยคุณภาพทั้งหมดของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก ดังแสดงใน Table 28 พบว่าผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้คะแนนความชอบต่อทุกปัจจัยคุณภาพอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก โดยปัจจัยด้านสี ผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางและชอบมากเป็นร้อยละ 38.5 และ 38 ตามลำดับ ในปัจจัยด้านกลิ่นรสถั่ว ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางและชอบมากเป็นร้อยละ 38 และ 33.5 ตามลำดับ ปัจจัยด้านความหวาน ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางและชอบมากเป็นร้อยละ 39 และ 29.5 ตามลำดับ ในปัจจัยด้านความข้นหนืด ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางและชอบมากเป็นร้อยละ 43 และ 31 ตามลำดับ ส่วนความชอบรวม ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบปานกลางและชอบมากเป็นร้อยละ 45.5 และ 29.5 ตามลำดับ

Table 28. Liking score of prebiotic supplemented soybean milk

Attribute/ Demographic	Consumer frequency (%)									Average liking score*
	Dislike extremely	Dislike very much	Dislike moderately	Dislike slightly	Neither like nor dislike	Like slightly	Like moderately	Like very much	Like extremely	
Total consumer										
Color	0	0	1.5	0	2.5	7.5	38.5	38.0	12.0	7.44 ± 1.04
Beany flavor	0	0	0	1.4	3.0	10.0	38.0	33.5	14.0	7.41 ± 1.04
Sweetness	0	0	1.0	0.5	3.5	9.5	39.0	29.5	17.0	7.42 ± 1.12
Viscosity	0	0	0	0.5	1.0	10.0	43.0	31.0	14.5	7.46 ± 0.93
Overall liking	0	0	0.5	0.5	3.0	8.0	45.5	29.5	13.0	7.38 ± 1.00

*Values are the means ± SD of 200 consumer responses. 1 = dislike extremely and 9 = like extremely.

อย่างไรก็ตามหากมีผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกจำหน่ายในท้องตลาด โดยบรรจุปริมาณและราคาเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองในท้องตลาด คือ ราคากล่องละ 12 บาท (200 มิลลิลิตร / กล่อง) พบว่ามีค่าคะแนนความตั้งใจซื้อเฉลี่ยเท่ากับ 6.84 โดยผู้บริโภคคิดว่าจะซื้อแน่นอน อาจจะซื้อและเป็นไปได้ว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเป็นร้อยละ 32, 21.5 และ 16.5 ตามลำดับ (Table 29) และหากมีข้อมูลบ่งชี้เพิ่มเติมให้ผู้บริโภคทราบว่า “นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบ-โอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ มีน้ำตาลน้อยเพราะใช้พรีไบโอติกแทนน้ำตาลบางส่วน มีคุณสมบัติป้องกันท้องผูก อีกทั้งพรีไบโอติกที่เติมลงไปจะช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ดี (probiotic) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายคือ ป้องกันท้องเสีย เสริมสร้างภูมิต้านทานของร่างกาย ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งลำไส้ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยดูดซึมแคลเซียมและเหล็ก นอกจากนี้โปรตีนถั่วเหลืองยังช่วยลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันได้อีกด้วย” พบว่าค่าคะแนนความตั้งใจซื้อเฉลี่ยสูงขึ้นเป็น 7.94 โดยมีผู้บริโภคคิดว่าจะซื้อแน่นอนเพิ่มขึ้นเป็น ร้อยละ 55 และซื้อค่อนข้างแน่นอน ร้อยละ 12.5 ซึ่งได้เพิ่มขึ้นจากเดิมก่อนหน้าที่ผู้บริโภคจะได้รับข้อมูลบ่งชี้ ที่มีเพียงร้อยละ 32 และ 9 ตามลำดับ (Table 29) จะเห็นได้ว่าการให้ข้อมูลด้านคุณประโยชน์ของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีอิทธิพลทำให้ผู้บริโภคตัดสินใจซื้อเพิ่มมากขึ้น

Table 29. Consumer purchase intent of the prebiotic supplemented soybean milk

Parameter	Consumer (%)	Consumer responding (%)									
		Definitely would not buy	Rather would not buy	Possible would not buy	Probably would not buy	Maybe/ Maybe not buy	Probably would buy	Possible would buy	Rather would buy	Definitely would buy	Average score*
Total consumer											
Before**	100	3.5	1.0	0.5	7.0	9.0	21.5	16.5	9.0	32.0	6.84 ± 2.04
After**	100	0	0.5	0	2.0	3.5	12.5	14	12.5	55.0	7.94 ± 1.42

* The values are means ± SD of 200 consumer responses. 1 = definitely would not buy and 9 = definitely would buy.

** Before and after consumers had been informed about product health benefit.

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

1. องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เถ้า เยื่อใย และความชื้นร้อยละ 38.86, 37.86, 20.08, 5.2, 2.37 และ 10.63 ตามลำดับ และไอโซฟลาโวน 80.34 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

2. การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสำหรับผู้บริโภคสูงอายุโดยการสร้างแนวความคิดด้านคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จากผู้บริโภคสูงอายุ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่จะพัฒนาควรเป็นนมถั่วเหลืองพาสเจอร์ไรซ์ บรรจุในกล่องกระดาษ มีความข้นหนืดในระดับน้อยถึงปานกลาง มีสีขาวครีม มีกลิ่นรสถั่วปานกลาง และหวานน้อย ผลิตภัณฑ์ควรมีการเสริมสารพรีไบโอติก และต้องมีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง มีการเขียนระบุถึงประโยชน์ของพรีไบโอติกและระบุว่าเป็น “ผลิตภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุ” บนฉลากของผลิตภัณฑ์

3. การศึกษาอัตราส่วนของพรีไบโอติก 3 ชนิด คือ อินนูลิน (I) กาแลคโตโอลิโก-แซคคาไรด์ (GOS) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) โดยเติมส่วนผสมพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ ร้อยละ 4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่า I สามารถเพิ่มความข้นหนืดของนมถั่วเหลืองได้มากกว่า GOS และ IMO ($p<0.05$) การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสทั้ง 6 คุณลักษณะ คือ สี ความหนืด (ด้านลักษณะปรากฏ) กลิ่นรสถั่ว ความหวาน (ด้านกลิ่นรส) ความข้นหนืด (ด้านเนื้อสัมผัส) และรสหวาน (ในปากและคอ) (ด้านความรู้สึกหลังกลืน) ของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร ไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$)

4. การคัดเลือกอัตราส่วนพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกได้ดีที่สุด ด้วยการทดสอบส่วนผสมของพรีไบโอติกทั้ง 13 สูตร ต่อการส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456, *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 พบว่า GOS สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ IMO ในขณะที่ I สามารถส่งเสริมการเจริญได้น้อยที่สุด การทำนายด้วยสมการแบบหุ่นจำลองได้สูตรที่มีความเหมาะสมที่สุดคือสูตรที่มีอัตราส่วนของอินนูลิน กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไอโซมอลโต-โอลิโกแซคคาไรด์ ร้อยละ 11, 62 และ 27 ตามลำดับ

5. การเจริญของโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เพิ่มขึ้นในสูตรที่มีความเหมาะสมที่สุด และสูตรควบคุมไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) ซึ่งสูตรที่มีความเหมาะสมที่สุดสามารถส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum* DSM 20456 (หลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง), *L. plantarum* TISTR 875 และ *L. acidophilus* TISTR 1034 (หลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง) ให้เพิ่มขึ้น log 0.96, log 2.06 และ log 1.61 ตามลำดับ

6. นมถั่วเหลืองสูตรจำลองมีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่าสูตรเสริมพรีไบโอติก ($p<0.05$) นมถั่วเหลืองสูตรเสริมพรีไบโอติกมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด และความข้นหนืดมากกว่าสูตรจำลอง ($p<0.05$) แต่ไม่มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านสี ความหนืด และกลิ่นรสถั่ว ($p>0.05$) แต่มีความแตกต่างกันด้านความหวาน ความข้นหนืด และรสหวาน (ในปากและคอ) ($p<0.05$) นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกที่ลดปริมาณน้ำตาลเป็นร้อยละ 2.6 ไม่มีความแตกต่างกับนมถั่วเหลืองสูตรจำลองทางด้านประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะ ($p>0.05$)

7. นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกมีความคงตัวของสารแขวนลอย และไม่มีการแยกชั้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 1±1 องศาเซลเซียส โดยนมถั่วเหลืองเริ่มมีการตกตะกอนเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน การทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อความชอบด้านลักษณะปรากฏ และสีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน ($p>0.05$) โดยมีคะแนนอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก ส่วนคะแนนความชอบด้านกลิ่น และความชอบโดยรวมมีคะแนนลดลงเมื่อเก็บรักษา 25 วัน โดยอยู่ในระดับชอบปานกลางถึงชอบมาก และการเก็บรักษา 30 วัน มีคะแนนความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 30 ยังคงมีจำนวนน้อยกว่า 30 CFU/ml

8. การยอมรับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุที่ได้รับการพัฒนาของผู้บริโภคสูงอายุในจังหวัดสงขลาจำนวน 200 คน พบว่าผู้บริโภคมีความชอบต่อผลิตภัณฑ์ในด้านสี กลิ่นรสถั่ว ความหวาน ความข้นหนืด และความชอบโดยรวม เฉลี่ยเท่ากับ 7.44, 7.41, 7.42, 7.46 และ 7.38 ตามลำดับ ผู้บริโภคมีค่าคะแนนความตั้งใจซื้อผลิตภัณฑ์ในราคากล่องละ 12 บาท (200 มิลลิลิตร/กล่อง) เฉลี่ยเท่ากับ 6.84 โดยผู้บริโภคร้อยละ 32 คิดว่าจะซื้อแน่นอน และหากมีข้อมูลบ่งชี้เพิ่มเติมให้ผู้บริโภคทราบถึงคุณประโยชน์ของพรีไบโอติกที่เสริมในผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าคะแนนความตั้งใจซื้อเฉลี่ยสูงขึ้นเป็น 7.94 โดยมีผู้บริโภคคิดว่าจะซื้อแน่นอนเพิ่มขึ้นเป็น ร้อยละ 55

ข้อเสนอแนะ

หากมีการศึกษาต่อไปหรือการผลิตผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุที่ได้จากการวิจัยในครั้งนี้เพื่อทำการจำหน่ายทางการค้า ควรเพิ่มเติมการศึกษาการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกร่วมกับแบคทีเรียก่อโรค ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารพรีไบโอติกที่คัดเลือก เพื่อทดสอบคุณสมบัติของสารพรีไบโอติกในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2544. ถั่วเหลือง (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.doae.go.th/library/html/detail/bean2/ruk2.htm (15 กรกฎาคม 2552)

กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข . 2549. ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในอาหารไทย (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.anamai.moph.go.th/nutri/ FoodTable/Html/cover.html (3 มิถุนายน 2549)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 198) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำนมถั่วเหลืองในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 529/2547) เรื่อง น้ำนมถั่วเหลือง.

รุจิรา สัมมะสุต. 2543. ความต้องการพลังงานและสารอาหารของผู้สูงอายุ. ใกล้หมอ. 24: 62-65.

รัชนีกร ภู่กร. 2538. สุขภาพผู้สูงอายุ โปรแกรมสุขศึกษา. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏพิบูลสงคราม. 415 หน้า.

วาตี ภู่โรจสวัสดิ์. 2550. “Plus Value” เกมเปลี่ยนขั้ว ตลาดนมถั่วเหลือง. นิตยสารข่าวการตลาดโฟร์-พี. 44 (4): 56-59.

วิทยาลัยประชากรศาสตร์.2548. สถิติผู้สูงอายุในประเทศไทย (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.cps.chula.ac.th/pop_info/thai/nop7/nop5/N5-WHOLE.HTM (22 ธันวาคม 2548)

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2551. ผู้สูงอายุไทย 2550 มุมมอง/เสียงสะท้อนจากข้อมูลสถิติ. สำนักสถิติพยากรณ์ สำนักงานสถิติแห่งชาติ. บริษัท พี. เอ. ลีฟวิ่ง จำกัด. กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยประชากรและสังคม มหาวิทยาลัยมหิดล. 2551. สารประชากร มหาวิทยาลัยมหิดล (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.ipsr.mahidol.ac.th/content/Publication/gazetteth.htm

สถาบันวิจัยพืชไร่. 2548. ถั่วเหลือง (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://210.246.186.28/fieldcrops/soy/index.htm (16 ธันวาคม 2551)

สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2547. โครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมสู่ชุมชน จังหวัดลำปาง. นครปฐม. 226 หน้า.

สมาคมส่งเสริมผู้ใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์. 2548ก. สถานการณ์เมล็ดถั่งเหลืองโลก ปี 2549 (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.feedusers.com/thai/cms/html/Inedible/113.html (16 ธันวาคม 2551)

สุวลี โล่วิรกรณ์. 2548. ถั่วเหลืองกับสุขภาพ. ว. ศูนย์บริการวิชาการ. 13: 21-24.

ห้องสมุดธนาคารไทยพาณิชย์. 2549. (ออนไลน์). สืบค้นจาก: http://www.scb.co.th/LIB/th/article/mong/2548/m1734.html (16 ธันวาคม 2551)

อรุณี สมมณี. 2548. ถั่วเหลืองพืชสารพัดประโยชน์. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 20: 51-60.

Alvarez-Olmos, M. I. and Oberhelman, R. A. 2001. Probiotic agents and infectious diseases: a modern perspective on a traditional therapy. Clin. Infect. Dis. 32: 1567-1576.

Anderson, J. W., Johnstone, B. M. and Cook-Newell, M. E. 1995. Meta-Analysis of the Effects of Soy Protein Intake on Serum Lipids. N. Engl. J. Med. 333: 276-282.

Anderson, R. L. and Wolf, W. J. 1995. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and isoflavones related to soybean processing. J. Nutr. 125: 581-588.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Aryana, K. J. and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. LWT. 40: 1808–1814.

Award, A. B., Chan, K. C., Downie, A. C. and Fink, C. S. 2000. Peanuts as a source of β-sitosterol, a sterol with anticancer properties. Nutr. Cancer. 36: 238-241.

Banuelos, O., Fernandez, L., Corral, J. M., Valdivieso-Ugarte, M., Adrio, J. L. and Velasco, J. 2008. Metabolism of prebiotic products containing β(2-1) fructan mixtures by two Lactobacillus strains. Anaerobe. 14: 184–189.

Belitz, H. D., Schieberle, P. and Grosch, W. 2004. Sugars, Sugar Alcohols and Honey. *In* Food Chemistry. 3rd ed. p. 861-891. Springer. Berlin.

Bielecka, M., Biedrzycka, E. and Majkowska, A. 2002. Selection of probiotics and prebiotics for synbiotics and confirmation of their in vivo effectiveness. Food Res. Int. 35: 125-131.

Bomba, A., Nemcova, R., Gancarcikova, S., Herich, R., Guba, P. and Mudronova, D. 2002. Improvement of the probiotic effect of microorganisms by their combination with maltodextrins, fructo-oligosaccharides and polyunsaturated fatty acids. Br. J. Nutr. 88: 95-99.

Bornet, F. R., Brouns, F., Tashiro, Y. and Duviller, V. 2002. Nutritional aspect of short-chain fruvtooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Dig. Liver Dis. 34: 111-120.

Bosscher, D., Caillie-Bertrand, M. V., Cauwenbergh, R. V. and Deelstra, H. 2003. Availabilities of calcium, iron and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers and modified starch fractions. J. Nutr. 19: 641-645.

Brown, S. L. 2006. The effect of environment on seed composition of tofu and natto soybean cultivars. M.S. University of Missouri-Columbia.

Burns, A. J. and Rowland, I. R. 2000. Anti-carcinogenicity of probioics and prebiotics. Curr. Issues Intest. Microbiol. 1: 13-24.

Canadian Food Inspection Agency. 1996. The Biology of Glycine max (L.) Merr. (Soybean): Biology Document BIO1996-10. Plant Biosafety Office. Ontario.

Chaiwanon, P. 1999. Calcium fortification in soybean milk and *in-vitro* bioavailability. M.S. Mahidol University.

Chan, W. A., Boswell, C. D. and Zhang, Z. 2000. The effect of different in-vitro solutions in the dissolution of calcium pectinate beads intended for the delivery of life cells to the human large intestine. Minerva Biotechnol. 12: 271-278.

Cross, M. 2002. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 34: 245-253.

Cummings, J. H., Macfarlane, G. T. and Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. Am. J. Clin. Nutr. 73: 415- 420.

Day N'Kouka, K., Klein, B. P. and Lee, S. Y. 2004. Developing a lexicon for descriptive analysis of soymilks. J. Food Sci. 69: 259-263.

Delzenne, N., Cherbut, C. and Neyrinck, A. 2003. Prebiotics: actual and potential effects in inflammatory and malignant colonic diseases. Current Opinions in Clin. Nutr. Metabolic Care. 6: 118-186.

de Man, L., de Man, J. M. and Buzzell, R. I. 1987. Composition and properties of soymilk made from Ontario light hilum soybeans. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 20: 363-367.

Desjardins, M. L., Roy, D. and Goulet, J. 1990. Growth of bifidobacteria and their enzyme profiles. J. Dairy Sci. 73:299-307.

Erkkila, S. and Petaja, E. 2000. Screening of commercial meat starter culture at low pH in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Sci. 55: 297-300.

Fermia, A. P., Luceri, C., Dorola, P., Giannini, A., Biggeri, A., Salvadori, M., Clune, Y., Collins, K. J., Paglierani, M. and Caderni, G. 2002. Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the prebiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats. Carcinogenesis. 23: 1953-1960.

Flickinger, E. A., Loo, J. V. and Fahey, G. C. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: a review. J. Food Sci. Nutr. 43: 19-60.

FAO. 2001. Carrageenan/Compendium of food additive specifications. In Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives 57 th session. Addendum 9. Rome, Italy. 5-14 June 2001. P. 1-8.

Food and Drug Administration. 1999. Food labeling: health claims; soy protein and coronary heart disease. Food and Drug Administration, HHS. Final rule. Federal Register. 64, 57700–57733.

Fuller, R. and Gibson, G. R. 1998. Probiotics and Prebiotics: microflora management for improved gut health. Clin. Microbiol. Infec. 4: 477-480.

Gibson, G. R. 2004. Fiber and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clin. Nutr. Sup. 1: 25-31.

Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary Modulation of the Human Colonie Microbiota: Introducing the Concept of Prebiotics. J. Nutr. 125: 1401-1412.

Gibson, G. R. and Wang, X. 2004. Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. J. Appl. Bacteriol. 77: 412-420.

Golbitz, P. 1995. Traditional soyfoods: processing and products. J. Nutr. 125: 570-572.

Gorbach, S. L. 2002. Probiotics in the third millennium. Dig. Liver Dis. 34: 2-7.

Gossett, P. W., Rizvi, S. S. H. and Baker, R. C. 1984. Quantitative analysis of gelation in egg protein systems. Food Technol. 38: 67-96.

Hartemink, R. 1999. Prebiotic effects of non-digestible oligo- and polysaccharides. Ph.D. Dissertation. Wageningen Agricultural University.

Hinds, M. J., Beuchat, L. R. and Chinnan, M. S. 1997a. Properties of a thermal-processed beverage prepared from roasted partially defatted peanuts. Int. J. Food Sci. Technol. 32: 203-211.

Hinds, M. J., Beuchat, L. R. and Chinnan, M. S. 1997b. Effects of homogenization pressure and stabilizers on some physical characteristics of a beverage prepared from partially defatted, roasted peanuts. Plant Foods Hum. Nutr. 50: 269-277.

Holzapfel, W. H. and Schillinger, U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. Food Res. Int. 35: 109-116.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., and Huis, J. H. J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. Int. J. Food Microbiol. 41: 85–101.

Holzapfel, W. H. 2006. Introduction to Prebiotics and Probiotics. *In* Probiotics in Food Safety and Human Health. (Goktepe, I., Juneja, VK. and Ahmedna, M., ed.). p. 1-34. CRC Press. Baca Raton.

Hou, H. J and Chang, K. C. 1998. Yield and quality of soft tofu as affected by soybean physical damage and storage. J Agric. Food Chem. 46: 4798-4805.

Hu, R. 1999. Food product design: A Computer-aid Statistical Approach. 225p. Technomic Publishing Co., Inc. Lancaster.

Huebner, J., Wehling, R. L. and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. Int. Dairy J. 17: 770-775.

Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A. and Hutkins, R. W. 2008. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. Int. Dairy J. 18: 287–293.

Insel, P., Turner, R. E. and Ross, D. 2004. Nutrition. 2nd Ed. Jones and Barlett Publishers, Inc. Sudbury.

International Standard ISO 8586-1. 1993. Sensory Analysis–General guidance for the selection and monitoring of assessors. International Organization for Standardization, Geneva, Switzerland.

Isolauri, E., Salminen, S. and Ouwehand, A. C. 2004. Probiotic. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 18: 299-313.

Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Kobayashi, Y., Yajima, T. and Kan, T. 1990. Effect of administration of galactooligosaccharide on the human feacal microflora, stool weight and abdominal sensation. Microb. Ecol. Health Dis. 3: 285-292.

Iwuoha, C. I. and Umunnakwe, K. E. 1997. Chemical, physical and sensory characteristics of soymilk as affected by processing method, temperature and duration of storage. Food Chem. 59: 313–379.

Izumi, T., Piskula, M. K., Osawa, S., Obata, A., Tobe, K., Saito, M., Kataoka, S., Kubota, Y. and Kikuchi, M. 2000. Soy isoflavones aglycones are absorbed faster and in higher amounts than their glucosides in human. J Nutr. 130: 1695-1699.

Janer, C., Rohr, L. M., Pelaez, C., Laloi, M., Cleusix, V., Requena, T. and Meile, L. 2004. Hydrolysis of oligofructoses by the recombinant β-fructofuranosidase from *Bifidobacterium lactis*. System. Appl. Microbiol. 27: 279–285.

Kaur, I. P., Chopra, K. and Saini, A. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. Eur. J. Pharm. Sci. 15: 1-9.

Kaviani, B. and Kharabian, A. 2008. Improvement of the nutritional value of soybean [*Glycine max* (L) Merr.] seed with alteration in protein subunits of glycinin (11S globulin) and β-conglycinin (7S globulin). Turk. J. Biol. 32: 91-97.

Kennedy, A. R. 1995. The evidence for soybean products as cancer preventive agents. J. Nutr. 125: 733-743.

Kim, B. W., Kwon, H. J., Park, H. Y., Nam, S. W., Park, J. P. and Yun, J. W. 2000. Production of a novel transfructosylating enzyme from *Bacillus macerans* EG-6. Biotechnol. Lett. 20: 1031-1034.

Kim, J. J., Kim, S. H., Hahn, S. J. and Chung, I. M. 2004. Changing soybean isoflavone composition and concentrations under two different storage conditions over three years. Food Res. Int. 38: 435-444.

Kim, J. A., Hong, S. B., Jung, W. S., Yu, C. Y., Ma, K. H., Gwag, J. G. and Chung, I. M. 2007. Comparison of isoflavones composition in seed, embryo, cotyledon and seed coat of cooked-with-rice and vegetable soybean (Glycine max L.) varieties. Food Chem. 102: 738–744.

Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G. R. 2000. The human gut flora in nutrition and approaches for its dietary modulation. British Nutr. Foun. 25: 223-231.

Kudou, S., Fleury, Y., Welti, D., Magnolato, D., Uchida, T., Kitamura, K. and Okuba, K. 1991. Malonyl isoflavone glycosides in soybean seeds (*Glycine max* MERRILL). Agric. Biol. Chem. 55: 2227-2233.

Kunz, C. and Rudloff, S. 1993. Biological functions of oligosaccharides in human milk. Acta Paediatr. 82: 903-912.

Kwok, K. C., MacDougall, D. B. and Niranjan, K. 1999. Reaction kinetics of heat-induced colour changes in soymilk. J. Food Eng. 40: 15-20.

Lunn, J. and Buttriss, J. L. 2007. Carbohydrates and dietary fibre. BNF *Nutrition Bulletin.* 32: 21–64.

Mabel, M. J., Sangeetha, P. T., Platel, K., Srinivasan, K. and Prapulla, S. G. 2008. Physicochemical characterization of fructooligosaccharides and evaluation of their suitability as a potential sweetener for diabetics. Carbohydr. Res. 343: 56–66.

MacDonald, R. S., Guo, J. Y., Copeland, J., Browning, J. D., Sleper, D., Rottinghaus, G. E. and Berhow, M. A. 2005. Environmental influences on isoflavones and saponins in soybeans and their role in colon cancer. J. Nutr. 135: 1239-1242.

Macfarlane, S., Macfarlane, G. T. and Cummings, J. H. 2006. Review article: prebiotics in the gastrointestinal tract. Aliment. Pharmacol. Ther. 24: 701-714.

Macfie, H. J., Bratchell, N., Greenhoff, K. and Vallis, L. V. 1989. Designs to balance the effect of order of presentation and first-order carry-over effects in hall tests. J. Sensory Studies. 4: 129-148.

Makras, L., Van Acker, G. and De Vuyst, L. 2005. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 Degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. Appl. Environ. Microbiol. 71: 6531–6537.

Manning, T. S. and Gibson, G. R. 2004. Prebiotics. Best Pract. Res. Cl. Ga. 18: 287-298.

McBain, A. J. and Macfarlane, G. T. 2001. Modulation of genotoxic enzyme activities by non-digestible oligosaccharide metabolism in *in-vitro* human gut bacterial systems. J. Med. Microbiol. 50: 833-842.

Messina, M. J. 1999. Legumes and soybeans: overview of their nutritional profiles and health effects. Am. J. Clin. Nutr. 70:439-450.

Messina, M. and Barnes, S. 1991. The role of soy products in reducing risk of cancer. J. Natl. Cancer Inst. 83: 541-546.

Messina, M. J. and Loprinzi, C. L. 2001. Soy for breast cancer survivors: a critical review of the literature. J. Nutr. 131: 3095-3108.

Messina, M. J., Persky, V., Setchell, K. D. R. and Barnes, S. 1994. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. Nut. Cancer. 21: 113-131.

Min, S., YU, Y. and Martin, S. St. 2005. Effect of soybean varieties and growing locations on the physical and chemical properties of soymilk and tofu. J. Food Sci. 70: 8-12.

Munsell Book of Color, matte collection, Macbeth Division of Kollmorgen Instruments Corporation, New York.

Naruszewicz, M., Johansson, M. L., Zapolska-Downar, D. and Bukowska, H. 2002. Effect of Lactobacillus plantarum 299v on cardiovascular disease risk factors in smokers. Am. J. Clin. Nutr. 76: 1249-1255.

Olano-Martin, E., Gibson, G. R. and Rastall, R. A. 2002. Comparison of the *in vitro* bifidogenic properties of pectins and pectic-oligosaccharides. J. Appl. Microbiol. 93: 505–511.

Ouwehand, A. C., Salmien, S. and Isolauri, E. 2002. Probiotics: an overview of the beneficial effects. Antonie van Leeuwenhoek. 82: 279-289.

Padgette, S. R., Taylor, N. B., Nida, D. L., Bailey, M. R., MacDonald, J., Holden, L. R. and Fuchs, R. L. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. J. Nutr. 126: 702-716.

Palframan, R. J., Gibson, G. R. and Rastall, R. A. 2003. Carbohydrate preferences of *Bifidobacterium* species isolated from the human gut. Curr. Issues Intest. Microbiol. 4: 71-75.

Papamanoli, E., Tzanetakis, N., Litopoulou-Tzanetaki, E. and Kotzekidou, P. 2003. Characterization of lactic acid bacteria isolated from a Greek dry-fermented sausage in respect of their technological and probiotic properties. Meat Sci. 65: 859–867.

Penalvo, J. L., Castilho, M. C., Silveira, M. I. N., Matallana, M. C. and Torija, M. E. 2004. Fatty acid profile of traditional soymilk. Eur. Food Res. Technol. 219: 251-253.

Poysa, V. and Woodrow, L. 2002. Stability of soybean seed composition and its effect on soymilk and tofu yield and quality. Food Res. Int. 35: 337–345.

Prabhakaran, M. P., Hui, L. S. and Perera, C. O. 2006. Evaluation of the composition and concentration of isoflavones in soy based supplements, health products and infant formulas. Food Res. Int. 39: 730-738.

Priepke, P. E., Wei, L. S., Nelson, A. I. and Steinberg, M. P. 1980. Suspension stability of Illinois soybean beverage. J. Food Sci. 45: 242-245.

Reddy, P. V. and Mital, B. K. 1992. Physical and chemical characteristics of soymilk. J. Food Sci. Technol. 293: 193-194.

Rice, J. 2002. Probiotics and prebiotics for healthful benefits (Online). Available: http://www.foodproductdesign.com/archive/2002/0702AP.html. [17 May 2006]

Roberfroid, M. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs. Am. J. Clin. Nutr. 73: 406-409.

Roberfroid, M. 2002. Functional food concept and its application to prebiotics. Dig. Liver Dis. 34: 105-110.

Roberfroid, M. B., Van Loo, J. A. E. and Gibson, G. R. 1998. The bifidogenic nature of chicory inulin and its hydrolysis products. J. Nutr. 128:11-19.

Ryan, S. M., Fitzgerald, G. F. and van Sinderen, D. 2005. Transcriptional regulation and characterization of a novel bfructofuranosidase-encoding gene from *Bifidobacterium breve.* Appl. Environ. Microbiol. 71: 3475–3482.

Rycroft, C. E., Jones, M. R., Gibson, G. R. and Rastall, R. A. 2001. A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. J. Appl. Microbiol. 91: 878-887.

Saidu, J. E. P. 2005. Development, Evaluation and Characterization of Protein-Isoflavone Enriched Soymilk. Ph.D. Philosophy. Louisiana State University.

Sako, T., Matsumoto, K. and Tanaka, R. 1999. Resent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligasaccharides. Int. Dairy J. 9: 69-80.

Salen, G., Arens, E. H. and Grundy, S. M. 1970. Metabolism of β-Sitosterol in Man. J. Clin. Invest. 49: 952-967.

Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R., Isolauri, E., Moreau, M. C., Roberfroid, M. B., and Rowland, I. R. 1998. Functional food science and gastrointestinal physiology and function. Br. J. Nutr. 80: 147-171.

Saltzman, J. R., Russell, R. M., Golner, B., Barakat, S., Dallal, G. E. and Goldin, B. R. 1999. A randomized trial of *Lactobacillus acidophilus* BG2FO4 to treat lactose intolerance. Am. J. Clin. Nutr. 69:140–146.

Sandholm, T. M., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R. and Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. Int. Dairy J. 12: 173-182.

Saulnier, D. M. A., Molenaar, D., de Vos, W. M., Gibson, G. R. and Kolida, S. 2007. Identification of prebiotic fructooligosaccharide metabolism in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 through microarrays. Appl. Environ. Microbiol. 73: 1753-1765.

Scalabrini, P., Rossi, M., Spettoli, P. and Matteuzzi, D. 1998. Characterization of *Bifidobacterium* strains for use in soymilk fermentation. Int. J. Food Microbiol. 39: 213–219.

Setchel, K. D. R. and Cassidy, A. 1999. Dietary isoflavones: Biological effects and relevance to human health. J. Nutr. 129: 758-767.

Shand, P. J., Sofos, J. N. and Schmidt, G. R. 1994. Kappa-carrageenan, sodium chloride and temperature affect yield and texture of structured beef rolls. J. Food Sci. 59: 282-287.

Shimamura, S., Abe, F., Ishibashi, N., Miyakawa, H., Yaeshima, T., Araya, T. and Tomita, M. 1992. Relationship between oxygen sensitivity and oxygen metabolism of *Bifidobacterium* species. J. Dairy Sci. 75: 3296-3306.

Shin, H. S., Lee, J. H., Pestka, J. J. and Ustunol, Z. 2000. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. In skim milk containing oligosaccharides and inulin. J. Food sci. 65: 884-887.

Simmonne, A. H., Smith, M., Weaver, D. B., Vail, T., Barnes, S. and Wei, C. I. 2000. Retention and changes of soy isoflavones and carotenoids in immature soybean seeds (Edamame) during processing. J. Agric. Food Chem. 48: 6061-6069.

Speck, M. L. 1984. Compendium of method for the microbiology examination of foods. *In* American Public Health Association. (D.C. Wick, ed.). p. 1707-1709. Academic Press. Washington.

Suriyong, S., Vearasilp, S., Pawelzik, E., Krittigamas, N., Thanapornpoonpong, S. 2002. Pre-emergence effeect to imbibition of soybean seeds. Deutscher Tropentag 2002, Conference on International Agricultural Research for Development, Witzenhausen. 9-11 October 2002.

Tomas, L. G., Marques, J. C. and Costell, E. 2008. Viscoelasticity of inulin—starch-based dairy systems. Influence of inulin average chain length. Food Hydrocolloid. 22: 1372-1380.

Topping, D. L. and Clifton, P. M. 2001. Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. Physiol. Rev. 81: 1031-1064.

Tsunehiro, J., Matsukubo, T., Shiota, M. and Takaesu, Y. 1997. Caries-inducing activity of the hydrogenated derivative of an isomaltooligosaccharide mixture in rats. Biosci. Biotechnol. Biochem. 61: 1317-1322.

Tungland, B. C. and Meyer, D. 2002. Non-digestible oligosaccharides (dietary fibre): Their physiology and role in human health and food. Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. *3*: 73–92.

Tuohy, K. M., Kolida, S., Lustenberger, A. and Gibson, G. R. 2001. The prebioic effects of biscuits containing partially hydrolyzed guar gum and fructooligosaccharides - a human volunteer study. Br. J. Nutr. 86: 341-348.

Tuohy, K. M., Probert, H. M., Smejkal, C. W. and Gibson, G. R. 2003. Using probiotics and prebiotics to improve gut health. Drug Discov. Today. 8: 692-700.

Tuohy, K. M., Rouzaud, G. C. M., Brück, W. M. and Gibson, G. R. 2005. Modulation of the human gut microflora towards improved health using prebiotics - assessment of efficacy. Curr. Pharm. Des. 11: 75-90.

Tsangalis, D., Ashton, J. F., McGill, A. E. J. and Shah, N. P. 2002. Enzymatic transformation of isoflavone phytoestrogens in soymilk by β-glucosidase-producing bifidobacteria. J. Food Sci. 67: 3104-3113.

United Soybean Board, 2001. Soy and Health. The healthful balances nutrient (Online). http://www.soyconnection.com/health_nutrition/pdf/Allergenicity_Fact_Sheet.pdf (20 November 2008)

U.S. Department of Agriculture. 2006. The USDA nutrient database for standars reference (Online). Available: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp. [24 November 2008]

Van der Meulen, R., Avonts, L. and deVuyst, L. 2004. Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010. Appl. Environ. Microbiol. 70: 1923-1930.

Vernazza, C. L., Rabiu, B. A. and Gibson, G. R. 2006. Human Colonic Microbiology and the Role of Dietary Intervention: Introduction to Prebiotics. *In* Prebiotics: Development & Application. (Gibson, GR. And Rastall, RA., eds.). p. 1-28. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex.

Villegas, B., Carbonel, I. and Costell, E. 2007. Inulin milk beverage: sensory differences in thickness and creaminess using R-index analysis of the ranking data. J. Sensory Studies. 22: 377–393.

Wada, T., Sugatani, J., Terada, E., Ohguchi, M. and Miwa, M. 2005. Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose. J. Agric. Food Chem. 53: 1246–1253.

Warchol, M., Perrin, S., Grill, J. P. and Schneider, F. 2002. Characterization of a purified β-fructofuranosidase from *Bifidobacterium infantis* ATCC 15697. Lett. Appl. Microbiol. 35: 462–467.

Whistler, R. and Daniel, J. R. 1990. Function of Polysaccharides in Foods. *In* Food Additives. (Branen, AL., Davidson, PM., Salminen, S., eds.). p. 395-423. Marcel Dekker, INC. New York.

Xu, Z., Wu, Q. and Godber, S. J. 2002. Stabilities of Daidzin, glycitin, genistin and generation of derivatives during heating. J. Agric. Food Chem. 50: 7402-7406.

Young, J. 2006. European market developments in prebiotic- and probiotic- containing foodstuff (online). http://www.Ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=retrieve&db=PubMed&list_uids=9924290&dopt=abstract (10 October 2007)

Zeki, B. 1992. Soymilk and related products. *In* Technology of Production of Edible Flours and Protein Products from Soybeans. p. 107-120. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

Ziemer, C. J. and Gibson, G. R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies. Int. Dairy J. 8: 473-479.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ

ก1. การวัดค่าความหนืด

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหนืด Brookfield รุ่น DVII^{+}
2. เข็มวัดความหนืดเบอร์ 1
3. หม้อน้ำควบคุมอุณหภูมิ

วิธีการ

1. นำนมถั่วเหลืองใส่บีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร แล้วอุ่นให้มีอุณหภูมิประมาณ 45±1 องศาเซลเซียส
2. จุ่มเข็มวัดความหนืดเบอร์ 1 ลงในตัวอย่างนมถั่วเหลือง โดยให้นมถั่วเหลืองท่วมรอยมาร์กที่หัวเข็ม และทำการเลือกความเร็วรอบให้เท่ากับ 100 รอบต่อนาที
3. บักทึกค่าความหนืดซึ่งมีหน่วยเป็น cPs

ก2. การวัดค่าสี

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าสี ยี่ห้อ Hunter Lab รุ่น Color Flex

วิธีการ

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเข้าสู่โปรแกรมสำเร็จรูป โดยทำการเลือก start > program > HunterLab > Universal V3.73
2. ทำการ calibrate เครื่องวัดค่าสีด้วยแผ่นสีมาตรฐาน ดังนี้
   2.1 เลือก standardize แล้วเลือกขนาด port 0.5 นิ้ว
   2.2 วางแผ่นสีมาตรฐานสีดำ โดยวางด้านสีดำมันลงบน port
   2.3 วางแผ่นสีมาตรฐานสีขาว โดยให้จุดสีขาวบนแผ่นสีอยู่กึ่งกลาง port
3. กำหนดค่าในการวัด โดยเลือก active view แล้วเลือกคำสั่งต่างๆ ดังนี้
   3.1 scale เลือก CIE Lab เพื่อให้เครื่องวัดค่าสีในระบบ Hunter Lab (ค่าที่วัดได้จะเป็นค่า L*, a* และ b*)
   3.2 เลือกค่าแหล่งกำเนิดแสง (Illuminant) และค่าแหล่งแสงอ้างอิง (MI Illuminant) เท่ากับ D65
   3.3 เลือกองศาการมอง (observer) 10ฐ
   3.4 แหล่งแสงอ้างอิง (MI:Illuminant) เลือกเช่นเดียวกับแหล่งกำเนิดแสง

4. เทตัวอย่างใส่ลงในถ้วยแก้วสำหรับใส่ตัวอย่าง และวางลงบน port

5. ปิดฝาครอบ เพื่อมิให้มีแสงรบกวนจากภายนอก

6. เริ่มวัดค่าสีโดยเลือก read sample และรอจนเครื่องอ่านค่าเสร็จ

ก3. การวัดค่าดัชนีการแยกชั้น (Separation index) (ดัดแปลงจาก Priepke *et al*., 1980)

อุปกรณ์

1. กระบอกตวง ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. ไม้บรรทัด

วิธีการ

1. นำตัวอย่างนมถั่วเหลืองบรรจุลงในกระบอกตวง แล้วปิดปากกระบอกตวงด้วยแผ่นฟอยด์

2. นำไปเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส โดยให้ตัวอย่างอยู่นิ่ง

3. ทำการวัดการแยกชั้นของนมถั่วเหลือง โดยการวัดความสูงของตะกอนนมถั่วเหลืองที่เกิดขึ้น หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน

การคำนวณ

$$\text{ดัชนีการแยกชั้น (Separation index)} = \frac{H - S}{H}$$

กำหนดให้ H คือ ความสูงทั้งหมดของนมถั่วเหลือง

S คือ ความสูงของตะกอนนมถั่วเหลือง

ก4. การวัดค่าดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย (Suspension stability index) (ดัดแปลงจาก Hinds *et al*., 1997a)

อุปกรณ์

1. บีกเกอร์ ขนาด 600 มิลลิลิตร

2. ปิเปต

วิธีการ

1. นำตัวอย่างนมถั่วเหลืองบรรจุลงในบีกเกอร์ แล้วปิดปากบีกเกอร์ด้วยแผ่นฟอยด์

2. นำไปเก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 1-4 องศาเซลเซียส โดยให้ตัวอย่างอยู่นิ่ง

3. ทำการเก็บตัวอย่างนมถั่วเหลือง หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 7, 14, 21 และ 28 วัน โดยการใช้ปิเปตดูดตัวอย่างบริเวณกึ่งกลางของบีกเกอร์นมถั่วเหลือง จากบริเวณเศษหนึ่งส่วน

สามของนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านบน และบริเวณเศษหนึ่งส่วนสามของนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านล่าง โดยจะดูดตัวอย่างมาประมาณ 10 มิลลิลิตร

4. นำตัวอย่างที่ดูดมาได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content) (วิธีการวิเคราะห์ดังแสดงใน ภาคผนวก ข7)

การคำนวณ

ดัชนีความคงตัวของสารแขวนลอย (Suspension stability index) = $\frac{\text{TS (top) \%}}{\text{TS (bottom) \%}}$

กำหนดให้ TS (top) คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมดบริเวณเศษหนึ่งส่วนสามของนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านบน

TS (bottom) คือ ปริมาณของแข็งทั้งหมดบริเวณเศษหนึ่งส่วนสามของนมถั่วเหลืองที่อยู่ด้านล่าง

ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ค่าทางเคมี

ข1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบไฟฟ้า
2. ภาชนะหาความชื้น (ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างที่ต้องการหาความชื้นให้ได้น้ำหนักแน่นอน ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง

5. นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องหลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนักภาชนะพร้อมตัวอย่างนั้น

6. อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

ข2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. เครื่องกลั่นโปรตีน
2. หลอดย่อยโปรตีน ขนาด 250-300 มิลลิลิตร
3. เตาย่อยโปรตีน
4. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
5. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. ปิเปต
7. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยา : คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) 1 ส่วน ต่อ โปแตสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 40 (น้ำหนักโดยปริมาตร)
4. สารละลายกรดบอริก (H_3BO_3) เข้มข้นร้อยละ 4 (น้ำหนักโดยปริมาตร)
5. สารละลายกรดเกลือ (HCl) เข้มข้น 0.02 นอร์มอล
6. สารละลายอินดิเคเตอร์ : นำเมทิลเรด (methyl red) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ผสมกับโบรโมครีซอลกรีน (bromocresol green) ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในสารละลายเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 0.5-1 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร

3. นำไปย่อยบนเตาย่อยโปรตีนจนได้สารละลายสีฟ้าใส

4. ทิ้งไว้ให้เย็นและเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

5. จัดอุปกรณ์กลั่น

5. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมกรดบอริก 40 มิลลิลิตร และอินดิเค-เตอร์ 1 หยด แล้วนำไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มอยู่ในสารละลายกรด

6. นำขวดรูปชมพู่ออกแล้วล้างปลายของอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวด แล้วไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดเกลือเข้มข้น 0.02 นอร์มอล ซึ่งเมื่อไตเตรทสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

7. ทำ blank ด้วยวิธีการเดียวกัน ตั้งแต่ข้อ 2-6

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{(A-B) \times N \times 1.4007 \times Factor}{W}$$

โดยที่ A = ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาณสารละลายกรดเกลือที่ใช้ไตเตรทกับ blank (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือ (นอร์มอล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

1.4007 = น้ำหนักสมมูลย์ของไนโตรเจน

Factor = 6.25

ข3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (soxhlet apparatus) ประกอบด้วยขวดก้นกลมสำหรับใส่ตัวทำละลาย ซอคเลต (soxhlet) เครื่องควบแน่น (condenser) และเตาให้ความร้อน (heating mantle)

2. หลอดใส่ตัวอย่าง (extraction thimble)

3. ตู้อบไฟฟ้า

4. โถดูดความชื้น

5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6. สำลี

สารเคมี

1. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (ตัวทำละลาย)

วิธีการ

1. อบขวดก้นกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตรในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้นปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของขวดก้นกลมลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างอาหารบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนักประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลี เพื่อให้สารละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

4. นำตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต เติมสารละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดก้นกลมหาไขมันปริมาตร 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตาให้ความร้อน

5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมันพร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน

6. ทำการสกัดไขมันเป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยปรับเตาความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

7. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอตเลต และกลั่นเก็บสารทำละลายจนเหลือสารทำละลายในขวดก้นกลมเพียงเล็กน้อยด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายระบบสุญญากาศ

8. นำขวดหาไขมันไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้นปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของขวดก้นกลมลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

9. อบซ้ำนานครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักไขมันหลังอบ (กรัม)

ข4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้ง ครั้งละประมาณ 30 นาที และทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปเผาในตู้ควันจนหมดควันแล้วนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส และทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{W_2 \times 100}{W_1}$$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

ข5. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (A.O.A.C., 2000)

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = 100 - (P + F + A)$$

กำหนดให้ P คือ ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

F คือ ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

A คือ ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

ข6. การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid)

อุปกรณ์

1. Hand refractometer

วิธีการ

1. นำตัวอย่างนมถั่วเหลืองวัดด้วย hand refractometer อ่านปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในหน่วยองศาบริกซ์ (°Brix)

ข7. การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid content) (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. ถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหย
2. ตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ
3. หม้อน้ำควบคุมอุณหภูมิ
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำถ้วยกระเบื้องมาล้างให้สะอาด อบให้แห้งในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของถ้วยลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
2. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องสำหรับระเหยที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว
4. นำไประเหยให้แห้งในหม้อน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 95±2 องศาเซลเซียส
5. อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของถ้วยลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก
6. ทำซ้ำเช่นข้อที่ 5 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = $\frac{W_2 \times 100}{W_1}$

กำหนดให้ W_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของแข็งหลังอบ (กรัม)

ข8. การวัดค่าพีเอช (A.O.A.C., 2000)

อุปกรณ์

1. เครื่อง pH meter
2. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ปรับพีเอชมิเตอร์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน พีเอช 4, 7 และ 10
2. ทำการวัดค่าพีเอชของนมถั่วเหลืองในบีกเกอร์โดยใช้เครื่อง Bench pH / mV / Temperature Meter

ข9. การวิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวน (Simmonne *et al*., 2000; ส่งตรวจวิเคราะห์ที่หน่วยเครื่องมือกลาง คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล)

อุปกรณ์

1. หลอด screw cap tube
2. Vortex mixer
3. เครื่อง centrifuge
4. ขวด vial สีชา
5. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

สารเคมี

1. Acetronitrile
2. N_2
3. Trifluoraoracetic acid
4. Standard 5 ชนิด (Glycitin, Genistin, Daidzein, Glycitein, Genistein)

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองและนมถั่วเหลืองก่อนการวิเคราะห์ด้วย HPLC

1.1 ชั่งตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองที่บดละเอียดและตัวอย่างนมถั่วเหลืองที่นำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เรียบร้อยแล้ว ใส่ใน screw cap tube หลอดละ 0.2 กรัม

1.2 เติมน้ำกลั่น 0.9 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex mixer จนตัวอย่างละลายหมด

1.3 เติม 1.0 มิลลิลิตร acetronitrile เขย่าด้วย vortex ประมาณ 5 นาที เก็บตัวอย่างไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง แล้วจึงนำตัวอย่างออกมาเขย่าอีกครั้ง 5 นาที เก็บตัวอย่างไว้ในที่มืดอีก 1 ชั่วโมง

1.4 นำมา centrifuge ด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 407 g (1,500 RPM) 25 ºC 30 นาที

1.5 ปิเปตส่วนใสใส่ขวด vial สีชา 200 ไมโครลิตร ระเหยตัวทำละลายออกด้วยก๊าซไนโตรเจนจนแห้ง

1.6 ทำการละลายตัวอย่างกลับด้วยน้ำกลั่น เขย่าให้เข้ากันนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วย HPLC ต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณ isoflavone ด้วย HPLC

2.1 วิเคราะห์ตัวอย่างด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ C8 (Eclipse XDB C8; 4.6×150 mm) ใช้ UV detector วัดความยาวคลื่นที่ 262 nm โดยใช้ mobile phases 2 ชนิด ได้แก่ สารละลาย A ประกอบด้วย 10% acetronitrile ในน้ำ กับ 0.1% trifluoracetic acid และสารละลาย B ประกอบด้วย 90% acetronitrile ในน้ำ กับ 0.1% trifluoracetic acid

2.2 หลังจากฉีดตัวอย่างแล้วสารละลาย B จะเพิ่มจาก 0% เป็น 27%, 100% และกลับมาที่ 0% ที่เวลา 0, 27, 30 และ 32 นาที ตามลำดับ มีอัตราในการไหลของ mobile phases เท่ากับ 1.5 ml/min

2.3 ในการวิเคราะห์จะใช้ standard ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ Glycitin, Genistin, Daidzein, Glycitein และ Genistein

2.4 การวิเคราะห์ผลทำได้โดยนำ peak area ของ standard ที่รู้ความเข้มข้นที่แน่นอนมา plot กราฟระหว่าง peak area กับ ความเข้มข้น จะได้ standard curve

ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ค่าทางจุลินทรีย์

ค1. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหาร De Man Rogosa Sharpe (MRS)

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Proteose peptone	10	กรัมต่อลิตร
Beef extract	10	กรัมต่อลิตร
Yeast extract	5	กรัมต่อลิตร
Dextrose	20	กรัมต่อลิตร
Polysorbate 80	1	มิลลิลิตรต่อลิตร
Ammonium citrate	2	กรัมต่อลิตร
Sodium acetate	5	กรัมต่อลิตร
Magnesium sulphate	0.10	กรัมต่อลิตร
Manganese sulphate	0.05	กรัมต่อลิตร
Dipotassium phosphate	2	กรัมต่อลิตร

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหาร 55.15 กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากันด้วย magnetic stirrer แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค2. สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร Minimal medium

องค์ประกอบ minimal medium

peptone water	2.0	กรัมต่อลิตร
yeast extract	2.0	กรัมต่อลิตร
NaCl	0.1	กรัมต่อลิตร
K_2HPO_4	0.04	กรัมต่อลิตร
KH_2PO_4	0.04	กรัมต่อลิตร
$CaCl_2.6H_2O$	0.01	กรัมต่อลิตร
$MgSO_4.7H_20$	0.01	กรัมต่อลิตร
$NaHCO_3$	2.0	กรัมต่อลิตร
Tween 80	2	มิลลิลิตรต่อลิตร
cysteine–HC1	0.5	กรัมต่อลิตร

Bile salt	0.5	กรัมต่อลิตร
Hemin	0.02	กรัมต่อลิตร

วิธีการเตรียม

ชั่งอาหารแต่ละส่วนประกอบต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากันด้วยแท่งกวนแม่เหล็ก แล้วทำให้ปราศจากเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ค3. การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Viable Count) (Speck, 1984)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Plate count agar (PCA)
2. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1

วิธีการ

1. เขย่าตัวอย่างนมถั่วเหลือง แล้วเปิดฝาด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
2. ทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 หรือสารละลายเปปโตน ร้อยละ 0.1 ให้มีระดับความเจือจาง 1:10, 1:100, 1:1000 และ 1:10000
3. ปิเปตตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางใส่จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว จานละ 1.0 มิลลิลิตร ทำระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ
4. เทอาหาร PCA ซึ่งกำลังหลอมเหลวและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 15-20 มิลลิลิตร
5. เขย่าจานเพาะเชื้อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างอาหาร โดยการหมุนจานเพาะเชื้อในทิศทางตามเข็มนาฬิกา 5 ครั้ง ทวนเข็มนาฬิกาอีก 5 ครั้ง ทำอย่างระมัดระวังและรวดเร็วเพื่อไม่ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัวก่อน
6. ตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง
7. นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏในจานเพาะเชื้อ โดยเลือกนับจานที่มีจำนวนจุลินทรีย์ 30-300 โคโลนี แล้วหาค่าเฉลี่ย คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อ 1 กรัมตัวอย่าง (CFU/g sample)

การคำนวณ

CFU = ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนี × ระดับความเจือจาง

ค4. ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ ANOVA โดยใช้โปรแกรม Design Expert เพื่อศึกษาแบบหุ่นจำลองที่ใช้อธิบายความสัมพันธ์ของอัตราส่วนพรีไบโอติกที่มีผลต่อการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก

Appendix Table C4. ANOVA for Mixture Quadratic Model

Response	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Bb	Model	0.059	5	0.012	43.17	< 0.0001	significant
	Linear Mixture	0.042	2	0.021	75.65	< 0.0001	
	AB	7.872E-003	1	7.872E-003	28.66	0.0011	
	AC	8.142E-003	1	8.142E-003	29.64	0.0010	
	BC	1.718E-007	1	1.718E-007	6.253E-004	0.9807	
	Residual	1.923E-003	7	2.747E-004			
	Lack of Fit	1.758E-003	4	4.396E-004	8.02	0.0593	not significant
	Pure Error	1.645E-004	3	5.483E-005			
	Cor Total	0.061	12				

Bb = *Bifidobacteria bifidum* DSM 20456, Lp = *Lactobacillus plantarum* TISTR 875, La = *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034.

A = Inulin, B = Galacto-oligosaccharides, C = Isomalto-oligosaccharides.

Appendix Table C4. (Continued)

Response	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Lp	Model	0.026	5	5.222E-003	28.46	0.0002	significant
	Linear Mixture	0.024	2	0.012	66.29	< 0.0001	
	AB	9.849E-004	1	9.849E-004	5.37	0.0537	
	AC	2.587E-004	1	2.587E-004	1.41	0.2738	
	BC	2.751E-004	1	2.751E-004	1.50	0.2604	
	Residual	1.285E-003	7	1.835E-004			
	Lack of Fit	1.172E-003	4	2.930E-004	7.81	0.0614	not significant
	Pure Error	1.125E-004	3	3.750E-005			
	Cor Total	0.027	12				

Appendix Table C4. (Continued)

Response	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
La	Model	0.19	5	0.039	64.16	< 0.0001	significant
	Linear Mixture	0.17	2	0.087	143.95	< 0.0001	
	AB	0.012	1	0.012	19.77	0.0030	
	AC	5.469E-003	1	5.469E-003	9.06	0.0196	
	BC	1.973E-004	1	1.973E-004	0.33	0.5853	
	Residual	4.223E-003	7	6.033E-004			
	Lack of Fit	2.645E-003	4	6.613E-004	1.26	0.4430	not significant
	Pure Error	1.578E-003	3	5.260E-004			
	Cor Total	0.20	12				

ภาคผนวก ง การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ง1. ใบยินยอมสำหรับการสัมภาษณ์และทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสูตรจำลอง

ใบชี้แจงข้อมูลและการแสดงความยินยอมเข้าร่วมการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุโดยใช้ผู้ทดสอบชิม

ใบยินยอมการเป็นอาสาสมัคร

(Consent form)

ในวันที่ 3 - 10 กรกฎาคม 2550 นี้ ท่านจะได้รับการสัมภาษณ์และทดสอบชิมตัวอย่างนมถั่วเหลืองสูตรเบื้องต้น ซึ่งท่านจะได้รับตัวอย่างนมถั่วเหลืองสูตรเบื้องต้นเพื่อทดสอบชิมจำนวน 1 ตัวอย่าง โดยจะใช้เวลาในการสัมภาษณ์และทดสอบชิมคิดเป็นเวลาไม่เกิน 1 ชั่วโมง โดยประมาณ ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ท่านได้ทดสอบชิมนั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทางผู้จัดการทดสอบได้ผลิตขึ้นเองอย่างถูกสุขลักษณะ ท่านสามารถสอบถามรายละเอียดของการวิจัยครั้งนี้ได้จาก นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์ ผู้วิจัย และถ้าท่านมีเหตุผลใดๆ ที่ทำให้ไม่อาจทดสอบชิมต่อได้ท่านสามารถยกเลิกการทดสอบได้ทุกขณะที่ท่านต้องการ

ข้าพเจ้าได้รับข้อมูลตามที่ต้องการและยินดีเข้าร่วมการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ โดยใช้ผู้ทดสอบชิม ณ. โรงพยาบาลสงขลา

ลงชื่อ.....

( )

วันที่…….. เดือน กรกฎาคม 2550

ง2. แบบสำรวจความต้องการของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ใช้ในการอภิปรายกลุ่ม (Focus group) ผู้บริโภคสูงอายุเพื่อสร้างแนวความคิดผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

Focus group - Prebiotic Fortified Soybean Milk

<u>การแนะนำ</u>

- สวัสดีค่ะ ดิฉัน นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์ เป็นนักศึกษาระดับปริญญาโท คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในวันนี้ดิฉันจะขอความกรุณาให้ทุกท่านแสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับการพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ ดิฉันต้องการทราบถึงข้อมูลคุณลักษณะ (Attributes) และคุณประโยชน์ (Benefit) ของผลิตภัณฑ์ที่ทุกท่านต้องการ ซึ่งดิฉันก็จะนำข้อมูลที่ได้ในวันนี้ไปทำการปรับปรุงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองให้ตรงกับความต้องการของทุกท่านให้มากที่สุด

- ก่อนอื่นขอเชิญทุกท่านช่วยแนะนำตัวเองกันก่อนค่ะ

- วันนี้ถือเป็นโอกาสที่ดีที่ดิฉันได้มาพบปะกับทุกท่าน และทุกท่านได้มาร่วมกันแสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ การร่วมกันแสดงความคิดเห็นในวันนี้จำเป็นต้องมีการบันทึกข้อมูลเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้องและครบถ้วน จะขออนุญาตบันทึกเทปนะค่ะ และนอกจากนี้จะขอความกรุณาอย่าขัดจังหวะในระหว่างที่แต่ละท่านให้ความคิดเห็น ทุกคนจะมีโอกาสได้แสดงความคิดเห็นกันอย่างเต็มที่

<u>การอภิปรายในคำถามทั่วไป</u>

1. คำถามทั่วไปเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

1.1 โดยปกติท่านรับประทานนมถั่วเหลืองหรือไม่

1.2 ท่านชอบรับประทานนมถั่วเหลืองในรูปแบบไหน เพราะอะไรถึงชอบแบบนั้น

1.3 ท่านรับประทานนมถั่วเหลืองบ่อยแค่ไหน (ครั้ง/สัปดาห์)

1.4 ปริมาณการรับประทานในแต่ละครั้ง (จำนวนกี่กล่อง/ถุง)

1.5 ปกติท่านชอบรับประทานนมถั่วเหลืองแบบร้อนหรือแบบเย็น

1.6 ท่านมักจะรับประทานนมถั่วเหลืองเวลาใด

2. คำถามทั่วไปเกี่ยวกับพฤติกรรมการซื้อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

2.1 นมถั่วเหลืองที่รับประทานมักจะหาซื้อจากที่ไหน

2.2 นมถั่วเหลืองที่ท่านรับประทานใครเป็นคนซื้อมาให้

2.3 ท่านมักจะซื้อนมถั่วเหลืองมาเก็บไว้ที่บ้านสำหรับรับประทานหรือไม่

2.4 เคยเจอปัญหาจากการเก็บรักษานมถั่วเหลืองหรือไม่ ปัญหาที่เจอคืออะไร

- ปัญหาที่เจอ คือ ……

2.5 ท่านมักจะซื้อนมถั่วเหลืองยี่ห้อไหน ทำไมถึงซื้อยี่ห้อนั้น

- ซื้อยี่ห้อ ……..…

- เพราะว่า ……...

2.6 ท่านเคยเจอการตกตะกอนของนมถั่วเหลืองหรือไม่

2.7 ท่านชอบนมถั่วเหลืองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบใด เพราะอะไรถึงชอบแบบนั้น

- เพราะ ……..

<u>เสริฟนมถั่วเหลืองสูตรจำลอง</u>

ท่านคิดว่านมถั่วเหลืองที่ท่านได้รับประทานนั้นมีลักษณะเป็นเช่นใด ให้ท่านบอกว่าชอบหรือไม่ชอบ เหตุผลที่ชอบหรือไม่ชอบ และอยากให้นมถั่วเหลืองเป็นอย่างไร

<u>การอภิปรายในคำถามเชิงลึก</u>

3. คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

-3.1 สี

- สีที่เห็นคือสีอะไร (ขาว / ขาว-ครีม / ครีม / ขาว-เหลือง / เหลือง / ขาว-เทา)
- ชอบ/ไม่ชอบ
- เหตุผลที่ชอบ/ไม่ชอบ (ถ้ามีสีเข้มกว่านี้ / จางกว่านี้จะดีหรือไม่ เพราะอะไร)
- อยากให้มีสีเป็นอย่างไร

3.2. กลิ่นรสถั่วเหลือง

- กลิ่นรสถั่วเหลืองตัวอย่างนี้เป็นอย่างไร (ไม่มี / มีน้อย / มีปานกลาง / มีมาก)
- ชอบ/ไม่ชอบ
- เหตุผลที่ชอบ/ไม่ชอบ (ถ้ามีกลิ่นรสถั่วเหลืองมากกกว่านี้/น้อยกว่านี้จะดีหรือไม่ เพราะอะไร)
- อยากให้มีกลิ่นรสถั่วเหลืองเป็นอย่างไร

3.3. ความหนืด (ความเหลว)

- ความหนืดของตัวอย่างนี้เป็นอย่างไร (หนืดมาก / หนืดปานกลาง / หนืดน้อย)
- ชอบ / ไม่ชอบ
- เหตุผลที่ชอบ / ไม่ชอบ (ถ้ามีความหนืดมากกว่านี้ / น้อยกว่านี้จะดีหรือไม่ เพราะอะไร)
- อยากให้มีความหนืดเป็นอย่างไร

3.4. รสชาติ (ความหวาน)

- ความหวานของตัวอย่างนี้เป็นอย่างไร (หวานมาก / หวานปานกลาง / หวานน้อย)
- ชอบ / ไม่ชอบ
- เหตุผลที่ชอบ / ไม่ชอบ (ถ้าหวานมากกว่านี้ / น้อยกว่านี้จะดีหรือไม่ เพราะอะไร)
- อยากให้มีความหวานเป็นอย่างไร

3.5. ความข้นหนืด (ความเข้มข้นของถั่วเหลือง)

- ความข้นหนืดของตัวอย่างนี้เป็นอย่างไร (ข้นหนืดมาก / ข้นหนืดปานกลาง / ข้นหนืดน้อย)
- ชอบ / ไม่ชอบ
- เหตุผลที่ชอบ / ไม่ชอบ (ถ้ามีความข้นหนืดมากกว่านี้ / น้อยกว่านี้จะดีหรือไม่ เพราะอะไร)
- อยากให้มีความข้นหนืดเป็นอย่างไร

4. แนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

4.1 ท่านคิดว่าควรจะเสริมสารอาหารอื่นๆ เพิ่มเติมลงในนมถั่วเหลืองหรือไม่

4.2 ท่านคิดว่าในนมถั่วเหลืองควรจะเสริมสารอาหารอะไรลงไปบ้าง ยกตัวอย่าง

4.3 ถ้าให้เลือกซื้อระหว่างนมถั่วเหลืองสูตรธรรมดากับนมถั่วเหลืองที่เสริมสารอาหารที่มีประโยชน์แต่ราคาแพงกว่าท่านจะเลือกซื้ออันไหน

ก่อนอื่นก็ต้องขออธิบายถึงพรีไบโอติกกันก่อนนะค่ะ ว่าพรีไบโอติกคืออะไร และมีประโยชน์อย่างไรบ้าง

พรีไบโอติก คือ สารอาหารจากธรรมชาติ (เป็นคาร์โบไฮเดรตพวกโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์) เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วจะไม่ถูกดูดซึม หรือย่อยสลายในลำไส้เล็ก จึงผ่านลงไปถึงลำไส้ใหญ่ ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สุขภาพ (probiotics) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติในระบบทางเดินอาหารและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ คือ

- ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารทำงานเป็นปกติ ช่วยป้องกันท้องผูกทำให้การขับถ่ายดีขึ้น ช่วยป้องกันหรือลดความรุนแรงของอาการท้องร่วง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคได้
- ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันโรค
- ช่วยในการดูดซึมแคลเซียมและเหล็ก
- ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด
- ช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งในลำไส้
- ช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในน้ำนม (ในคนที่ขาดเอนไซม์ β-garlactosidase ภายในลำไส้ ซึ่งช่วยแก้ปัญหาแน่นท้องหรือท้องเสียเมื่อรับประทานนมวัวได้
- นอกจากนี้ในถั่วเหลืองยังมีสารไอโซฟลาโวน ซึ่งสามารถลดภาวะที่ไม่พึงประสงค์ของผู้บริโภควัยหมดประจำเดือน ยับยั้งการเกิดมะเร็ง ป้องกันโรคกระดูดพรุน และป้องกันโรคหัวใจได้อีกด้วย

ดังนั้น หากเราบริโภคสารอาหารพรีไบโอติกก็จะช่วยให้ร่างกายได้รับประโยชน์ดังที่กล่าวมาข้างต้น

6.4 ถ้าใส่พรีไบโอติกลงไปในนมถั่วเหลืองท่านคิดว่าน่าสนใจหรือไม่

6.5 ถ้าให้เลือกซื้อระหว่างนมถั่วเหลืองสูตรธรรมดากับนมถั่วเหลืองที่เสริมสารพรีไบโอติกแต่ราคาแพงกว่าท่านจะเลือกซื้ออันไหน แพงกว่าได้อย่างน้อยกี่บาท

- แพงกว่าได้กี่บาท .....

6.6 ท่านกังวลหรือไม่ว่าเมื่อใส่พรีไบโอติกลงไปในนมถั่วเหลืองแล้วจะมีผลต่อสี กลิ่น รสชาติ ความข้นหนืด และอื่นๆ

6.7 ท่านชอบชื่อผลิตภัณฑ์ชื่อไหนระหว่างนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก กับนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ เพราะเหตุใดจึงชอบชื่อนั้น

- เพราะ .....

<u>การปิดการอภิปรายกลุ่ม</u>

สุดท้ายนี้ หากทำผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุนี้ขึ้นมา อยากจะทราบว่าท่านมีข้อเสนอแนะอะไรเพิ่มเติมอีกบ้าง

การร่วมกันอภิปรายเพื่อขอเสนอความคิดเห็นจากท่านในวันนี้นับว่าเป็นประโยชน์อย่างมากในการนำข้อมูลต่างๆ ที่ทุกท่านได้แนะนำ มาใช้ในการปรับปรุงผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุให้เหมาะสมและตรงตามความต้องการของทุกท่าน สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณทุกท่านที่กรุณาสละเวลาที่มีค่าของท่านมาในวันนี้ ขอบคุณมากค่ะ

ง3. แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสในคุณลักษณะด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

Descriptive Analysis

ชื่อผู้ทดสอบ……วันที่……..เวลา……ID…….

<u>คำจำกัดความ (Definition) สำหรับการทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง</u>

1. ลักษณะปรากฏ (Appearance)

สี สีที่ปรากฏบนตัวอย่างนมถั่วเหลือง ซึ่งอาจจะมีสีแตกต่างกันไปตั้งแต่สีขาว สีครีมไปจนถึงสีเหลือง สีขาวที่กล่าวถึงจะมีค่าสีในระบบมันเซลล์ (Munsell) อยู่ในช่วง N9/ – N9.75/ สีครีมมีค่าสีในระบบมันเซลล์อยู่ในช่วง 10YR 9/1 – 10YR 9/2 ส่วนสีเหลืองมีค่าสีในระบบมันเซลล์อยู่ในช่วง 2.5Y 9/1 – 2.5Y 9/2

ความหนืด ความหนืดของนมถั่วเหลืองที่วัดค่าโดยการเอียงภาชนะถ้าของเหลวมีการไหลอย่างรวดเร็วแสดงว่าตัวอย่างมีความหนืดน้อย ถ้าของเหลวมีการไหลช้าแสดงว่าตัวอย่างมีความหนืดมาก

2. กลิ่นรส (Flavor)

กลิ่นรสถั่ว การรับรู้กลิ่นที่ได้รับขณะที่ตัวอย่างอยู่ภายในปาก กลิ่นรสถั่วเป็นกลิ่นรสโดยรวมของกลิ่นรสถั่วเหลืองต้มสุกหรือกลิ่นรสนมถั่วเหลือง

ความหวาน รสที่เกิดจากการกระตุ้นโดยสารละลายซูโครส หรือน้ำตาลชนิดอื่นๆ

3. เนื้อสัมผัส (Texture)

ความข้นหนืด ความยากง่ายในการไหลของตัวอย่างภายในปากซึ่งสามารถรับรู้ได้โดยการอมตัวอย่างในปากแล้วใช้ลิ้นกวาดตัวอย่างไปมา ถ้าตัวอย่างมีลักษณะการไหลและความรู้สึกภายในปากคล้ายกับน้ำ (watery) หมายความว่ามีความข้นหนืดน้อย ถ้าตัวอย่างมีการไหลหนืดกว่าน้ำและมีความรู้สึกภายในปากหนักกว่าน้ำมาก (heavy) หมายความว่ามีความข้นหนืดมาก

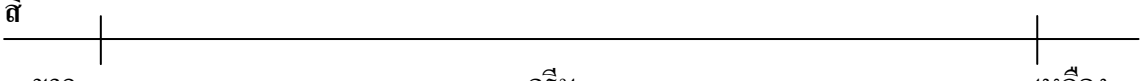
4. ความรู้สึกหลังกลืน (Aftertaste)

รสหวาน (ในปากและคอ) เป็นรสหวานที่รับรู้ได้บริเวณของลิ้นและในคอหลังกลืนตัวอย่างลงไป

<u>คำชี้แจง</u>: โปรดทำการทดสอบคุณลักษณะทั้ง 6 คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง แล้วทำเครื่องหมายเส้นตรงตามขวางตั้งฉากกับเส้นสเกลแนวนอนที่ให้ไว้เพื่อแสดงตำแหน่งที่ท่านได้ให้กับตัวอย่างแต่ละตัวอย่างในลักษณะนั้นๆ ตามที่ท่านคิดว่าเหมาะสมที่สุดในการเป็นตัวแทนลักษณะนั้นๆ ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง กรุณาเขียนชื่อรหัสของตัวอย่างแต่ละตัวอย่างบนเครื่องหมายเส้นตรงที่ท่านเขียนด้วย เพื่อแสดงว่าเส้นนั้นเป็นของตัวอย่างใด และกรุณาบ้วนปากทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างถัดไป

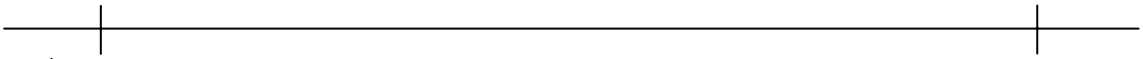
1. ลักษณะปรากฏ

สี



ขาว ครีม เหลือง

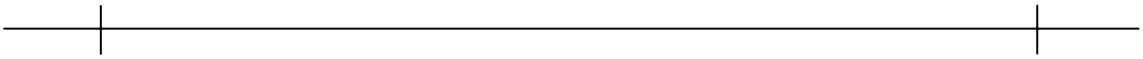
ความหนืด



น้อย มาก

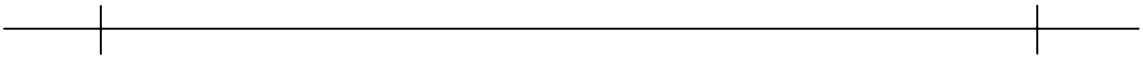
2. กลิ่นรส

กลิ่นรสถั่ว



น้อย มาก

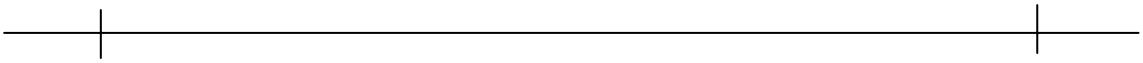
ความหวาน



น้อย มาก

3. เนื้อสัมผัส

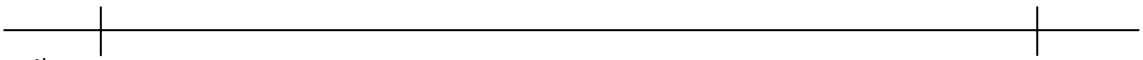
ความข้นหนืด



เหมือนน้ำ ข้นมาก

4. ความรู้สึกหลังกลืน

รสหวาน (ในปากและคอ)



น้อย มาก

ง4. แบบทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

แบบทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสวิธีฮีโดนิคสเกล (9 คะแนน)

9-POINT HEDONIC SCALE

ชื่อผู้ทดสอบชิม……..วันที่……..เวลา……....

ตัวอย่าง: นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก

คำแนะนำ: กรุณาทดสอบตัวอย่าง แล้วใส่ระดับความชอบในแต่ละปัจจัยของตัวอย่างที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด และกรุณาบ้วนปากทุกครั้งก่อนชิมตัวอย่างถัดไป

ระดับความชอบ:

9 = ชอบมากที่สุด
8 = ชอบมาก
7 = ชอบปานกลาง
6 = ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
3 = ไม่ชอบปานกลาง
2 = ไม่ชอบมาก
1 = ไม่ชอบมากที่สุด

รหัสตัวอย่าง	คุณลักษณะ			
	สี	กลิ่น	ลักษณะปรากฏ	ความชอบรวม

ข้อเสนอแนะ.....

.....

ขอบพระคุณค่ะ

ง5. ใบยินยอมในการทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

ใบชี้แจงข้อมูลและการแสดงความยินยอมเข้าร่วมการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุโดยใช้ผู้ทดสอบชิม

ใบยินยอมการเป็นอาสาสมัคร

(Consent form)

ในระหว่างวันที่ 26-31 สิงหาคม 2551 นี้ ท่านจะได้รับตัวอย่างนมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกเพื่อทดสอบชิมจำนวน 1 ตัวอย่าง โดยจะใช้เวลาในการทดสอบชิมคิดเป็นเวลาไม่เกิน 15 นาที โดยประมาณ ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองที่ท่านได้ทดสอบชิมนั้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทางผู้จัดการทดสอบได้ผลิตขึ้นเองอย่างถูกสุขลักษณะ ท่านสามารถสอบถามรายละเอียดของการวิจัยครั้งนี้ได้จาก นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์ ผู้วิจัย และถ้าท่านมีเหตุผลใดๆ ที่ทำให้ไม่อาจทดสอบชิมต่อได้ท่านสามารถยกเลิกการทดสอบได้ทุกขณะที่ท่านต้องการ

ข้าพเจ้าได้รับข้อมูลตามที่ต้องการและยินดีเข้าร่วมการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุโดยใช้ผู้ทดสอบชิม

ลงชื่อ.....

( )

วันที่…….….. เดือน สิงหาคม 2551

ง6. แบบสอบถามสำหรับการทดสอบผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

แบบสอบถามสำหรับผู้บริโภคสูงอายุต่อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติก
สำหรับผู้บริโภคสูงอายุ

ID…….....

คำชี้แจง: แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุของ นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์ นักศึกษาระดับปริญญาโท ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ในการดูแลของ ผศ.ดร. ก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์ ภายใต้การสนับสนุนจากสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ข้อมูลที่ท่านได้สละเวลาตอบจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ โดยข้อมูลเหล่านี้จะไม่มีผลกระทบใดๆ ต่อท่านทั้งสิ้น ขอขอบพระคุณทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ

ส่วนที่ 1: ข้อมูลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคนมถั่วเหลือง

คำแนะนำ: กรุณาใส่เครื่องหมาย (√) ลงใน ❍ ที่ตรงกับพฤติกรรมการบริโภคของท่าน

1. ท่านจัดว่าเป็นคนชอบรับประทานนมถั่วเหลือง

❍ มากที่สุด ❍ มาก ❍ ปานกลาง
❍ น้อย ❍ ไม่ชอบ

2. ท่านรับประทานนมถั่วเหลืองบ่อยแค่ไหน

❍ ทุกวัน ❍ 5-6 ครั้ง/สัปดาห์
❍ 3-4 ครั้ง/สัปดาห์ ❍ น้อยกว่าหรือเท่ากับ 2 ครั้ง/สัปดาห์

3. ท่านชอบรับประทานนมถั่วเหลืองแบบร้อนหรือแบบเย็น

❍ แบบร้อน ❍ แบบเย็น ❍ ทั้ง 2 แบบ

4. ท่านมักจะรับประทานนมถั่วเหลืองในเวลาใด (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ ช่วงเช้า ❍ ช่วงสาย ❍ ช่วงบ่าย
❍ ช่วงเย็น ❍ ช่วงค่ำ

5. ท่านรับประทานนมถั่วเหลืองในลักษณะใด (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ รับประทานแทนมื้ออาหารปกติ เช่น มื้อเช้า ❍ รับประทานเพื่อเป็นอาหารว่าง

❍ รับประทานเพื่อเป็นเครื่องดื่ม

6. ใครเป็นคนซื้อนมถั่วเหลืองมาให้ท่านรับประทาน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ ซื้อเอง ❍ ลูกหลานซื้อ ❍ อื่นๆ โปรดระบุ…….....…

7. สถานที่ที่ท่านจะเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ ห้างสรรพสินค้า เช่น เทสโกโลตัส คาร์ฟู ❍ ร้านสะดวกซื้อ เช่น 7-Eleven

❍ ร้านขายของชำ ❍ ตลาดสด/รถเข็น

❍ อื่นๆ โปรดระบุ……

8. รูปแบบนมถั่วเหลืองที่ท่านรับประทาน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ กล่อง ยู เอช ที (หรือกล่องกระดาษ) ❍ บรรจุขวดแก้ว ยู เอช ที

❍ พาสเจอร์ไรซ์ที่วางขายในตู้แช่ (ขวดพลาสติก) ❍ พาสเจอร์ไรซ์ (บรรจุถุงพลาสติก)

❍ นมถั่วเหลืองผงสำหรับชงรับประทาน

9. นมถั่วเหลืองยี่ห้อไหนที่ท่านนิยมซื้อมารับประทาน (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

❍ ดีน่า ❍ แลคตาซอย ❍ ไวตามิ้ลค์

❍ วี ซอย ❍ ขายในตลาดสด/รถเข็น (บรรจุถุงพลาสติก) ❍ อื่นๆโปรดระบุ……

10. กรุณาเรียงลำดับความสำคัญของเหตุผลในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง จาก 1 ถึง 7 โดยกำหนดให้ 1 = มีความสำคัญมากที่สุด และ 7 = มีความสำคัญน้อยที่สุด

____ รสชาติและความเข้มข้นของน้ำนมถั่วเหลือง

____ ความสะอาดและถูกสุขลักษณะ

____ ความสะดวกที่จะหาซื้อได้ง่าย

____ ความสดใหม่

____ มีคุณค่าทางอาหารและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ

____ ราคา

____ สะดวกในการเก็บรักษา/อายุการเก็บรักษา

ส่วนที่ 2: การยอมรับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

คำแนะนำ: กรุณาชิมตัวอย่างนมถั่วเหลือง แล้วระบุระดับความชอบโดยใส่เครื่องหมาย (√) ลงใน ❍ ที่ตรงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด

1. ความชอบโดยรวม (Overall liking)

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ชอบมากที่สุด	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบปานกลาง	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ (บอกไม่ได้-ว่าชอบหรือไม่ชอบ)	ชอบเล็กน้อย	ชอบปานกลาง	ชอบมาก	ชอบมากที่สุด

2. ความชอบด้านต่างๆ

2.1 สี (Color)

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ชอบมากที่สุด	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบปานกลาง	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ (บอกไม่ได้-ว่าชอบหรือไม่ชอบ)	ชอบเล็กน้อย	ชอบปานกลาง	ชอบมาก	ชอบมากที่สุด

2.2 กลิ่นรสถั่ว (Beany flavor)

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ชอบมากที่สุด	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบปานกลาง	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ (บอกไม่ได้-ว่าชอบหรือไม่ชอบ)	ชอบเล็กน้อย	ชอบปานกลาง	ชอบมาก	ชอบมากที่สุด

2.3 รสชาติ (Taste)

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ชอบมากที่สุด	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบปานกลาง	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ (บอกไม่ได้-ว่าชอบหรือไม่ชอบ)	ชอบเล็กน้อย	ชอบปานกลาง	ชอบมาก	ชอบมากที่สุด

2.4 ความข้นหนืด (Viscosity)

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ชอบมากที่สุด	ไม่ชอบมาก	ไม่ชอบปานกลาง	ไม่ชอบเล็กน้อย	เฉยๆ (บอกไม่ได้-ว่าชอบหรือไม่ชอบ)	ชอบเล็กน้อย	ชอบปานกลาง	ชอบมาก	ชอบมากที่สุด

3. ถ้านมถั่วเหลืองนี้ขายในราคากล่องละ 12 บาท (200 มิลลิลิตร/กล่อง) ท่านจะซื้อหรือไม่

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ซื้อแน่นอน	ไม่ซื้อค่อนข้างแน่นอน	เป็นไปได้ว่าจะไม่ซื้อ	อาจจะไม่ซื้อ	ไม่แน่ใจว่าจะซื้อหรือไม่	อาจจะซื้อ	เป็นไปได้ว่าจะซื้อ	ซื้อค่อนข้างแน่นอน	ซื้อแน่นอน

4. ถ้านมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกนี้ขายในราคากล่องละ 12 บาท (200 มิลลิลิตร/กล่อง) และมีข้อมูลบ่งชี้ให้ท่านทราบว่า “นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ มีน้ำตาลน้อยเพราะใช้พรีไบโอติกแทนน้ำตาลบางส่วน มีคุณสมบัติป้องกันท้องผูก อีกทั้งพรีไบโอติกที่เติมลงไปจะช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ดี (probiotic) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย คือ ป้องกันท้องเสีย เสริมสร้างภูมิต้านทานของร่างกาย ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งลำไส้ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยดูดซึมแคลเซียมและเหล็ก นอกจากนี้โปรตีนถั่วเหลืองยังช่วยลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตันได้อีกด้วย” ท่านจะซื้อหรือไม่

❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍	❍
ไม่ซื้อแน่นอน	ไม่ซื้อค่อนข้างแน่นอน	เป็นไปได้ว่าจะไม่ซื้อ	อาจจะไม่ซื้อ	ไม่แน่ใจว่าจะซื้อหรือไม่	อาจจะซื้อ	เป็นไปได้ว่าจะซื้อ	ซื้อค่อนข้างแน่นอน	ซื้อแน่นอน

ส่วนที่ 3: ข้อมูลส่วนตัวของผู้บริโภค

คำแนะนำ: กรุณาทำเครื่องหมาย (√) ลงใน ❍ ที่ตรงกับข้อมูลของท่าน

1. เพศ

❍ หญิง ❍ ชาย

2. อายุ

❍ 60-64 ปี ❍ 65-69 ปี ❍ 70-74 ปี

❍ 75-79 ปี ❍ 80 ปี ขึ้นไป

3. สถานภาพ

❍ โสด ❍ สมรส ❍ หม้าย ❍ หย่าร้าง

4. ระดับการศึกษา

❍ น้อยกว่าประถมศึกษา ❍ ประถมศึกษา ❍ มัธยมศึกษาตอนต้น

❍ มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช ❍ อนุปริญญา/ปวส ❍ ปริญญาตรี

❍ ปริญญาโท ❍ ปริญญาเอก ❍ อื่นๆ โปรดระบุ……..

5. อาชีพ

❍ ข้าราชการบำนาญ ❍ พนักงานรัฐวิสาหกิจ ❍ พนักงานบริษัท

❍ แม่บ้าน ❍ ประกอบธุรกิจส่วนตัว ❍ รับจ้าง

❍ ทำสวน/ทำไร่ ❍ อื่นๆ โปรดระบุ……

6. รายได้ต่อเดือน

❍ ต่ำกว่า 5,000 บาท ❍ 5,001-10,000 บาท ❍ 10,001-15,000 บาท

❍ 15,001-20,000 บาท ❍ 20,001-25,000 บาท ❍ สูงกว่า 25,000 บาท

ข้อเสนอแนะ……

……

……

ขอบพระคุณค่ะ

ภาคผนวก จ วิธีการและตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้ในการคัดเลือกและฝึกฝนผู้ทดสอบชิม (ดัดแปลงจาก International Standard ISO 8586-1, 1993)

จ1. ตัวอย่างนมถั่วเหลืองที่ใช้ในการคัดเลือกผู้ทดสอบ ด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test)

Appendix Table E1. The soybean milk samples for screening of assessors using Triangle Test

Times	Sets of sample	Samples	Ingredients (%)*	
			Sugar	κ-carrageenan
1	S1	A	5	0.015
		B	5	0.030
	S2	A	5	0.015
		B	7	0.015
	S3	A	5	0.015
		B	5.75	0.015
2	S1	A	5	0.015
		B	6.5	0.015
	S2	A	5	0.015
		B	5	0.040
	S3	A	5	0.015
		B	5	0.030
3	S1	A	5	0.025
		B	7	0.025
	S2	A	5	0.025
		B	5.75	0.025
	S3	A	5	0.025
		B	5	0.045

* The contents of salt, potassium citrate and Tri-calcium phosphate are 0.05, 0.3 and 0.1, respectively for all of samples.

Appendix Table E1. (Continued)

Times	Groups of sample	Samples	Ingredients (%)*	
			Sugar	κ-carrageenan
4	S1	A	5	0.025
		B	6.5	0.025
	S2	A	5	0.025
		B	5	0.100
	S3	A	5	0.025
		B	5	0.080
5	S1	A	5	0.025
		B	6	0.025
	S2	A	5	0.015
		B	5	0.035
	S3	A	5	0.015
		B	5	0.025
6	S1	A	5	0.025
		B	6	0.025
	S2	A	5	0.015
		B	5	0.045
	S3	A	5	0.015
		B	5	0.025

จ2. ขั้นตอนการดำเนินงานเพื่อทำการประเมินความแตกต่าง โดยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test)

ขั้นตอนการดำเนินงานมีดังนี้

1. เขียนรหัสของผู้ประเมินตามจำนวนผู้ประเมินที่กำหนดลงในแบบทดสอบ (ภาคผนวก จ3)
2. เขียนรหัสเลข 3 หลัก ให้แต่ละตัวอย่างโดยเลือกมาจากตารางเลขรหัส
3. ผู้ประเมินจะทดสอบตัวอย่างตามลำดับการนำเสนอตัวอย่างที่สุ่มมาจาก 6 แบบ คือ ABB, BAA, AAB, BBA, ABA และ BAB ดังแสดงในตัวอย่างด้านล่าง

ลำดับการนำเสนอตัวอย่าง	AAB	BBA	ABA	BAB	ABB	BAA
รหัสของผู้ประเมิน	1	2	3	4	5	6
	7	8	9	10	11	12
	13	14	15	16	17	18
	19	20	21	22	23	24
	25	26	27	28	29	30

4. เสิร์ฟตัวอย่างนมถั่วเหลือง (อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส) โดยจะต้องวางตัวอย่างลงในถาดสำหรับเสิร์ฟให้ตรงกับลำดับการนำเสนอตัวอย่างจากซ้ายไปขวา (ของผู้ประเมิน) พร้อมด้วยน้ำอุ่น (อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส) กระดาษเช็ดปาก แบบทดสอบ (ภาคผนวก จ3) และปากกา
5. เสิร์ฟตัวอย่างกลุ่มที่ 2 และ 3 (แสดงดัง Appendix Table E1) จะเว้นช่วงเวลาประมาณ 30 นาที หลังจากผู้ทดสอบประเมินตัวอย่างเสร็จ โดยดำเนินงานเช่นเดียวกับข้อ 1-4 และทำการทดสอบรวมทั้งหมด 18 ชุดการทดลอง (6 ครั้ง × 3 กลุ่ม)
6. นับจำนวนคำตอบที่ถูกของผู้ทดสอบแต่ละคน ผู้ทดสอบที่ผ่านการคัดเลือกจะต้องตอบถูกร้อยละ 70 ของการทดสอบทั้งหมด

จ3. แบบสอบถามที่ใช้สำหรับการทดสอบด้วยวิธีการเลือกตัวอย่างคี่จากสามตัวอย่าง (Triangle Test)

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส TRIANGLE TEST

DIFFERENCE ANALYSIS

ชื่อผู้ทดสอบ……...……วันที่……..……...…. เวลา……

ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองเสริมพรีไบโอติกสำหรับผู้บริโภคสูงอายุ ชุดที่……

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างที่เสนอจากซ้ายไปขวาแล้วประเมินความแตกต่างโดยรวม โดยให้เขียนตัวอย่างที่แตกต่างไปจากอีก 2 ตัวอย่าง กรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง

รหัสตัวอย่าง	**ตัวอย่างที่แตกต่างจากกลุ่ม**	**คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่แตกต่าง**
Set 1		
.....		……
.....	……	……
.....		……
Set 2		
.....		……
.....	……..……	……
.....		……
Set 3		
.....		……
.....	……	……
.....		……

ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

จ4. ตารางการนำเสนอตัวอย่างแบบ balance order and carry-over effects design สำหรับตัวอย่างจำนวน 13 ตัวอย่าง (ทั้งหมด 52 ซ้ำการทดลอง แบ่งเป็น 2 บล็อค ผู้ทดสอบบล็อคละ 26 คน)

Appendix Table E4. The balance order and carry-over effects design for 13 treatments with 52 replicates in 2 balanced blocks of 26 consumers

Samples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
1	12	5	11	2	9	4	6	13	7	8	10	3	1
2	2	4	5	13	12	8	11	3	9	1	6	10	7
3	11	12	9	5	6	2	7	4	10	13	1	8	3
4	3	1	8	10	13	7	4	6	2	9	5	11	12
5	10	7	1	6	3	9	8	11	13	12	4	5	2
6	5	2	12	4	11	13	9	8	6	3	7	1	10
7	8	3	13	1	4	10	2	7	5	6	12	9	11
8	4	13	2	8	5	3	12	1	11	10	9	7	6
9	9	11	6	12	7	5	10	2	1	4	3	13	8
10	6	9	7	11	10	12	1	5	3	2	8	4	13
11	1	10	3	7	8	6	13	9	4	11	2	12	5
12	7	6	10	9	1	11	3	12	8	5	13	2	4
13	13	8	4	3	2	1	5	10	12	7	11	6	9
14	11	9	12	6	5	7	2	10	4	1	13	3	8
15	7	10	6	1	9	3	11	8	12	13	5	4	2
16	3	8	1	13	10	4	7	2	6	5	9	12	11
17	1	3	10	8	7	13	6	4	9	2	11	5	12
18	4	2	13	5	8	12	3	11	1	9	10	6	7
19	8	13	3	4	1	2	10	5	7	12	6	11	9
20	5	12	2	11	4	9	13	6	8	7	3	10	1
21	2	5	4	12	13	11	8	9	3	6	1	7	10
22	9	6	11	7	12	10	5	1	2	3	4	8	13
23	6	7	9	10	11	1	12	3	5	8	2	13	4
24	12	11	5	9	2	6	4	7	13	10	8	1	3
25	10	1	7	3	6	8	9	13	11	4	12	2	5
26	13	4	8	2	3	5	1	12	10	11	7	9	6
27	11	7	3	1	10	6	12	4	5	8	13	9	2
28	10	3	12	11	5	7	13	1	2	6	9	4	8
29	7	1	11	6	3	4	10	8	12	9	5	2	13
30	9	2	8	13	4	5	6	12	1	10	7	3	11
31	1	6	7	4	11	8	3	9	10	2	12	13	5
32	4	8	6	9	1	2	7	13	11	5	3	12	10
33	3	11	10	7	12	1	5	6	13	4	2	8	9
34	2	13	9	5	8	12	4	10	6	3	1	11	7
35	5	12	13	10	2	3	9	11	8	7	4	1	6
36	8	9	4	2	6	13	1	5	7	12	11	10	3
37	13	5	2	12	9	10	8	3	4	11	6	7	1

Source: Macfie *et al*. (1989)

Appendix Table E4. (Continued)

Samples	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
38	12	10	5	3	13	11	2	7	9	1	8	6	4
39	6	4	1	8	7	9	11	2	3	13	10	5	12
40	6	1	4	7	8	11	9	3	2	10	13	12	5
41	8	4	9	6	2	1	13	7	5	11	12	3	10
42	5	13	12	2	10	9	3	8	11	4	7	6	1
43	12	5	10	13	3	2	11	9	7	8	1	4	6
44	4	6	8	1	9	7	2	11	13	3	5	10	12
45	10	12	3	5	11	13	7	2	1	9	6	8	4
46	7	11	1	3	6	10	4	12	8	5	9	13	2
47	1	7	6	11	4	3	8	10	9	12	2	5	13
48	3	10	11	12	7	5	1	13	6	2	4	9	8
49	2	9	13	8	5	4	12	6	10	1	3	7	11
50	9	8	2	4	13	6	5	1	12	7	10	11	3
51	11	3	7	10	1	12	6	5	4	13	8	2	9
52	13	2	5	9	12	8	10	4	3	6	11	1	7

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวภัคธีมา สุขพันธ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 4911020024

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์	2548

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

รับทุนการศึกษาระดับปริญญาโทของสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2551

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

ภัคธีมา สุขพันธ์ และก่องกาญจน์ กิจรุ่งโรจน์. 2551. การศึกษาพรีไบโอติกที่เหมาะสมในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยใช้แผนการทดลองแบบผสม. การเสนอผลงานในรูปแบบโปสเตอร์. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 34 วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสำหรับโลกแห่งความท้าทาย. ระหว่างวันที่ 31 ตุลาคม - 2 พฤศจิกายน 2551 ณ ศูนย์ประชุมแห่งชาติศิริกิตติ์ กรุงเทพมหานคร.

Sugkhaphan, P. and Kijroongrojana, K. 2009. Optimization of prebiotics in soybean milk using mixture experiments. Songklanakarin J. Sci. Technol. (Accepted).