สำนักหอสมุดกลาง_พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การปรับปรุงคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยเชื้อจุลินทรีย์

นางสาว มณีรัตน์ แตงทอง

นางสาว ฤทัยรัตน์ โรจน์กฤตวิทยา

นางสาว ศีลิยา สุขอนันต์

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 43979
วัน, เดือน, ปี 18 ต.ค. 2545

.b.....
.i.....

โครงงานพิเศษที่เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ คณะ วิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The improvement of soybean milk aroma by microorganisms

Miss Maneerat Tangthong

Miss Ruthairat Rojkritvitaya

Miss Seliya Suganan

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Reguirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ludkrabang

2001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การปรับปรุงคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยเชื้อจุลินทรีย์

The improvement of soybean milk aroma by microorganisms

โดย นางสาว มณีรัตน์ แตงทอง รหัส 41053054

นางสาว ฤทัยรัตน์ โรจน์กฤตวิทยา รหัส 41053066

นางสาว ศีลิยา สุขอนันต์ รหัส 41053077

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. สมชาย ไกรรักษ์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

---------- หัวหน้าภาค

(รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

---------- ประธานกรรมการ

(ผศ. วันชัย สุทธินุ่น)

---------- กรรมการ

(ดร. สมชาย ไกรรักษ์)

---------- กรรมการ

(ผศ. อารี ฤทธิบูรณ์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การปรับปรุงคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองโดยเชื้อจุลินทรีย์

นักศึกษา นางสาว มณีรัตน์ แตงทอง

นางสาว ฤทัยรัตน์ โรจน์กฤตวิทยา

นางสาว ศีลิยา สุขอนันต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. สมชาย ไกรรักษ์

ปีการศึกษา 2544

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีโปรตีนและสารต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย การเพิ่มคุณภาพนมถั่วเหลืองสามารถทำได้โดยศึกษาวิธีการแช่เมล็ดถั่วเหลืองในน้ำกลั่น น้ำกลั่นอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และ 0.5 ที่เวลาต่างๆ พบว่าวิธีการแช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที ให้นมถั่วเหลืองที่มีลักษณะทางกายภาพไม่แตกต่างกัน แต่ให้ผลของประสาทสัมผัสด้านกลิ่นแตกต่างกัน โดยเรียงลำดับจากน้อยไปหามากตามลำดับ ต่อมานำถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ทั้ง 3 สภาวะ มาหมักด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ในสภาพที่เป็นของแข็ง โดยใช้เชื้อเริ่มต้นในรูปผงแป้งซึ่งมีปริมาณสปอร์เริ่มต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัม แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่านมถั่วเหลืองที่ได้จากทุกสภาวะในการแช่จะมีกลิ่นถั่วลดลงในช่วงที่หมักด้วยเชื้อราเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และจะมีกลิ่นของเชื้อราเมื่อหมักเป็นเวลาตั้งแต่ 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นต้นไป และจากการวิเคราะห์คุณภาพของนมถั่วเหลือง พบว่าปริมาณโปรตีนละลายน้ำ ปริมาณกรดอะมิโน tyrosine และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title The improvement of soybean milk aroma by microorganisms

Student Miss Maneerat Tangthong

Miss Ruthairat Rojkritvitaya

Miss Seliya Suganan

Special Project Advisor Dr. Somchai Krirug

Department Applied Biology

Academic year 2001

Abstract

Soybean products have been interesting increase due to high protein contents and valuable components complex. The improvement of soybean milk qualities was achieved by steeping methadologies ; such as steeping in distilled water at room temperature and 60 ^{0}c for 12 h and 6 h , respectively and in 0.5% of lactic acid solution at room temperature for 20 min. Each steeping condition, soybean seeds were used for soybean milk preparation resulting in the same physical properties but normal, moderated and strong aroma, respectively. The steeped soybean seeds from each method were fermented by *Rhizopus oligosporus* using starch powder contained 10^{6} spores/g, as inoculum. The cultivation was carried on 30 ^{0}c. 100 g of fermented soybean

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10^6spores/g, as inoculum. The cultivation was carried on at 30 ^{0}c. 100 g of fermented soybean seeds was used for soybean milk preparation. It was found that 12 h of soybean fermentation gave the lower aroma than the control. However, the fermentation time longer than 24 h gave the stronger aroma than the control. For soluble protein, Tyrosine and reducing sugar analysises, the result shows that the longer fermentation time, the higher yields were received.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำต้องขอขอบคุณ ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำและความช่วยเหลือสำหรับโครงงานพิเศษนี้ และขอบคุณอาจารย์รวมทั้งเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือ ทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ

ปีการศึกษา 2544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		ข
สารบัญภาพ		ค
สารบัญตาราง		ง
บทที่ 1	บทนำ	1
บทที่ 2	การตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3	วิธีการดำเนินงาน	34
บทที่ 4	ผลการทดลองและวิจารณ์	37
บทที่ 5	บทสรุปและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง		
ภาคผนวก		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลือง (โดยน้ำหนักแห้ง)	3
ตารางที่ 2	ปริมาณและชนิดของโปรตีนโดยการใช้ Ultracentrifuge แยกจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้	5
ตารางที่ 3	ปริมาณน้ำตาลที่พบในส่วนต่างๆของถั่วเหลืองของสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น	9
ตารางที่ 4	ส่วนประกอบของกรดอะมิโนและคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์บางชนิด	13
ตารางที่ 5	อัตราส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้งหมดต่อไนโตรเจนทั้งหมดในแหล่งของโปรตีนต่างๆ	14
ตารางที่ 6	ส่วนประกอบของน้ำนมถั่วเหลืองที่ทำโดยวิธีการใช้น้ำสกัดเปรียบเทียบกับน้ำนมวัว	20
ตารางที่ 7	ระดับของปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลปอกซีจีเนส	21
ตารางที่ 8	ลักษณะของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จาการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆ	38
ตารางที่ 9	ลักษณะของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จาการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆ แล้วนำมาหมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oligosporus*	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	กลไกที่เอนไซม์ไลปอกซีจีเนสกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนลีเอท	24
ภาพที่ 2	กลไกการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีจีเนส	25
ภาพที่ 3	การเจริญของเชื้อ *Rhizopus oligosporus* บนจานเพาะเชื้อ	32
ภาพที่ 4	เชื้อ *Rhizopus oligosporus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	33
ภาพที่ 5	กราฟแสดงปริมาณโปรตีนละลายน้ำและปริมาณกรดอะมิโนอิสระของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆแล้วนำมาหมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oligosporus*	41
ภาพที่ 6	กราฟแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆแล้วนำมาหมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oligosporus*	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1. ที่มาและความสำคัญ

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีปริมาณโปรตีนสูง และมีศักยภาพเพียงพอสำหรับนำมาทดแทนแหล่งโปรตีนจากเนื้อสัตว์ ไข่ และนม ซึ่งมีราคาแพง และมีปริมาณไม่เพียงพอต่อความต้องการ นอกจากนี้ประเทศไทยมีการผลิตถั่วเหลืองปริมาณสูง และนำไปแปรรูปเป็นอาหารมากมาย ตัวอย่างเช่น เต้าหู้ นมถั่วเหลือง เต้าเจี้ยว เทมเป้ เป็นต้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูงซึ่งได้แก่ถั่วเหลืองนี้จึงได้รับความสนใจอย่างมาก เพื่อเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคและมีคุณค่าทางอาหาร

ปัจจุบันการบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคโดยอาจเนื่องมาจากกลิ่นถั่ว และกลิ่นเหม็นเขียว แต่การนำถั่วเหลืองมาผ่านขั้นตอนทางชีวภาพช่วยให้กลิ่นและเนื้อสัมผัสของถั่วเหลืองดีขึ้น การปรับปรุงกลิ่นอาจใช้สารบางตัวเพื่อบดบังกลิ่นบางอย่าง เช่น การใช้ fructose ร้อยละ 25 นมระเหยน้ำ และนมผงปราศจากไขมัน สารเหล่านี้จะมีผลต่อความหนืดซึ่งมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส (Buono และคณะ, 1990) สารประกอบ phenolic ในนมถั่วเหลืองมีผลต่อรสชาติของผลิตภัณฑ์นมหมัก ทำให้ผลิตภัณฑ์นมหมักมีรสขม การใช้ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) สามารถดูดซับสารประกอบเหล่านี้ได้ (Lee และคณะ, 1990) นอกจากนี้ร่างกายของคนเราขาดเอนไซม์ในการย่อยน้ำตาลบางชนิดในถั่วเหลือง ทำให้เกิดอาการท้องอืดหลังจากบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองนี้ศึกษาวิธีการต่าง ๆ เพื่อลดกลิ่นเหม็นเขียวและกลิ่นถั่ว นอกจากนี้ยังใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ ซึ่งเป็นโปรตีนที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้โดยตรง เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ ได้แก่ เชื้อราบางชนิดซึ่งสามารถใช้น้ำตาลชนิดที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ จึงเป็นการลดปัญหาหลังการบริโภคผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองลง นอกจากนี้ยังสามารถช่วยผู้บริโภคในเรื่องระบบขับถ่ายได้อีกด้วย

2. วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. ศึกษาลักษณะทางกายภาพของการเตรียมนมถั่วเหลืองแบบต่างๆที่ให้ระดับกลิ่นแตกต่างกัน

2. ศึกษาคุณภาพของนมถั่วเหลืองจากการหมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oligosporus*

3. **ขอบเขตของโครงงานพิเศษ**

ปรับปรุงคุณภาพกลิ่นของผลิตภัณฑ์จากนมถั่วเหลืองให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคโดยเชื้อจุลินทรีย์

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มปริมาณโปรตีนละลายน้ำ น้ำตาลรีดิวซ์และ tyrosine ในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง

2. สนับสนุนให้เกิดการบริโภคผลิตภัณฑ์นมจากพืชเป็นแหล่งโปรตีนทดแทนโปรตีนจากสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

ส่วนประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

1. ส่วนประกอบทางเคมี

เป็นที่ทราบกันดีแล้วว่าเมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนและไขมันจากพืชที่มากที่สุดแหล่งหนึ่ง ปริมาณสารอาหารดังแสดงในตารางที่ 1 จากตารางนี้พบว่าในเนื้อถั่วเหลืองโดยเฉพาะส่วนของใบเลี้ยง (ซึ่งมีเป็นร้อยละ 90 เปลือกร้อยละ 7 และยอดอ่อนร้อยละ 3) มีปริมาณโปรตีนและไขมันรวมกันอยู่ประมาณร้อยละ 60 ของน้ำหนักถั่วเหลืองทั้งหมด และร้อยละ 30 เป็นสารคาร์โบไฮเดรท ซึ่งรวมถึงพวกน้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลต่างๆกัน คือ starchiose มีประมาณร้อยละ 3.8 raffinose มีประมาณร้อยละ 1.1 และ sucrose มีประมาณร้อยละ 5.0 ส่วนที่เหลือเป็นคาร์โบไฮเดรทชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีสารอาหารประเภทเถ้า phosphatide sterol ซึ่งจัดเป็นพวกแร่ธาตุและวิตามิน เป็นต้น

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบโดยประมาณของถั่วเหลือง (โดยน้ำหนักแห้ง)

ถั่วเหลืองและส่วนของถั่วเหลือง	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรท	เถ้า
ถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	40	21	34	4.9
ใบเลี้ยง	43	23	29	5.0
เปลือกถั่ว	8.8	1	86	4.3
ยอดอ่อน	41	11	43	4.4

ที่มา : สถาบันค้นคว้าและวิจัย (2527)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 สารอาหารโปรตีน

การบริโภคถั่วเหลืองในทางโภชนาการควรคำนึงถึงสารอาหารโปรตีนที่เราจะได้จากถั่วเหลืองเป็นอันดับแรก ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มพืชตระกูลเดียวกัน ซึ่งมีถึงร้อยละ 40.4 ของน้ำหนักแห้ง โปรตีนหลายชนิดรวมทั้งโปรตีนจากถั่วเหลืองนั้นจะไวต่อการเปลี่ยนแปลงโดยสภาวะการต่างๆ (treatment) ทั้งทางกายภาพ เช่น แรงอัด ความร้อน และทางเคมี เช่นสภาวะความเป็นด่าง ปริมาณอนุมูลโลหะ หรือสารเคมีอื่น ๆ เป็นต้น ยังผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ทำให้การละลายตัวลดลง ขนาดของโมเลกุลของโปรตีนเปลี่ยนไป และมีความหนืด เป็นต้น

1.1.1 ชนิดของโปรตีน

โปรตีนถั่วเหลืองจะถูกสะสมอยู่ในเนื้อถั่วเหลือง เรียกว่า protein body หรือ โปรตีนสะสม (storage proteins) ซึ่งมีขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2-20 ไมครอน แต่ส่วนใหญ่มีขนาด 5-8 ไมครอน และมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วงของ 200,000 - 600,000 ในธรรมชาติโมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้สามารถจับตัวเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ได้อีก ด้วยการเชื่อมต่อพันธะไดซัลไฟด์ (disilfide linkage) และโปรตีนที่แยกได้เพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นั้นคือส่วนโปรตีนที่เปลี่ยนสภาพ เกิดปฏิกิริยาที่ซับซ้อนทำให้โปรตีนอย่างน้อย 7 ชนิดจับกันเป็นสับยูนิต ซึ่งอาจทำให้ขนาดโมเลกุลเปลี่ยนไปโดยสภาวะต่างๆ ปริมาณและชนิดของโปรตีนที่แยกจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้ แสดงในตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 ปริมาณและชนิดของโปรตีนโดยการใช้ Ultracentrifuge แยกจากโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้

Fraction	% ของทั้งหมด	ชนิดของโปรตีน	น้ำหนักโมเลกุล
2s	22	-Trypsin Inhibitor	8,000-21,500
		-Cytochrome C	12,00
7s	37	-Hemagglutinins	110,00
		-Lipoxygenases	102,00
		-α-Amylase	61,700
		-7s-Globulin	180,000-210,000
11s	31	-11s-Globulin	350,000
15s	11		600,000

ที่มา : Nakai และคณะ (1989)

1.1.2 การละลายของโปรตีน

โปรตีนในถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็นประเภทโกลบูลิน (globulin) ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำในสภาวะที่ pH ประมาณ 4.2-4.6 ซึ่งอยู่ในช่วง Isoelectric point แต่ละลายได้เมื่อเติมเกลือโซเดียมหรือแคลเซียมคลอไรด์ลงไป ถ้า pH สูงหรือต่ำกว่าจุด Isoelectric point โกลบูลินสามารถละลายได้ในสภาวะที่ไม่มีเกลืออยู่ เมื่อนำโปรตีนถั่วเหลืองสกัดน้ำมันออก มาละลายน้ำที่ pH 6.5 พบว่าประมาณร้อยละ 85 ของสารประกอบไนโตรเจนซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีนละลายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเมื่อปรับ pHให้เป็นด่างพบว่าการละลายจะเพิ่มขึ้นอีกร้อยละ 5-10 แต่ถ้าปรับ pH ให้เป็นกรด ค่าการละลายจะลดลงทันที การละลายมีค่าต่ำสุดที่ pH 4.2-4.6 จึงนำมาใช้ในการแยกโปรตีน เมื่อเพิ่มปริมาณกรดจนเลยจุด Isoelectric point พบว่าโปรตีนกลับมาละลายได้อีก โกลบูลินนี้จะเปลี่ยนคุณสมบัติการไม่ละลายน้ำที่จุด Isoelectric point ได้โดยใช้เอนไซม์เปบซิน ซึ่งตัดขนาดของโมเลกุลให้เล็กลง ทำให้โครงสร้างโกลบูลินเปลี่ยนแปลงไปมีผลต่อการนำไปใช้ในอาหารที่มีกรดร่วมอยู่ด้วย เป็นต้น

1.1.3 การเสียสภาพของโปรตีน (denaturation)

เนื่องจากโปรตีนในถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่ง่ายต่อการเปลี่ยนแปลงชนิดหนึ่ง สิ่งที่นักวิทยาศาสตร์สนใจมากคือ สาเหตุที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน ซึ่งเป็นผลจากการใช้ความร้อนและผลที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง pH อย่างรุนแรง

ก) การเสียสภาพเนื่องจากความร้อน (heat denaturation)

การนำถั่วเหลืองไปเป็นอาหารจำเป็นจะต้องนำไปผ่านความร้อนต่างๆ มีผลทำให้เกิดการเสียสภาพของโปรตีน ส่งผลให้เกิดลักษณะต่างๆ เช่น การไม่ละลายตัวของโปรตีนในน้ำ หรือ ในสารละลายเกลือ เป็นต้น โปรตีนละลายได้ในน้ำลดลงจากร้อยละ 80 เหลือเพียงร้อยละ 20-25 เมื่อได้รับความร้อนเป็นเวลา 10 นาที การวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนที่เสียสภาพไปนั้นมีอยู่หลายวิธี เช่น วิธีวัดการละลาย (solubity method) วิธีวัดการกระจายตัว (dispersibility method) และวิธีวัดจากการย่อยโดยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis method) เป็นต้น เมื่อความเข้มข้นสารละลายของโปรตีนสูงประมาณร้อยละ 7 ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 70-100 องศาเซลเซียส นานเพียง 10-30 นาที ทำให้ค่าความหนืด (viscosity) เพิ่มขึ้น และเกิดเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วุ้นแข็งได้ แต่ถ้าได้รับความร้อนสูงขึ้นเป็น 125 องศาเซลเซียส วุ้นนี้จะกลายสภาพเป็นสารละลายได้อีก การใช้สารเพิ่มการละลาย เช่น cysteine sodium sulfite จะช่วยลดความหนืด และป้องกันการเกิดวุ้นได้ ทั้งนี้การเกิดเป็นวุ้นของโปรตีนเนื่องจากพันธะไดซัลไฟด์ระหว่างโมเลกุลของโปรตีน (disulfide bonds) และ sulfhydryl-disulfide interchange ช่วยให้เกิดความคงตัวของโครงร่างโปรตีน (protein network)

ข) การเสียสภาพเนื่องจาก pH

การเปลี่ยนแปลง pH อย่างรุนแรงจะมีผลให้โปรตีนประเภทโกลบูลินในถั่วเหลืองเปลี่ยนสภาพไปกล่าวคือ ถ้าค่าของ pH สูง (ประมาณ 12) จะทำให้เปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุลย่อยของ 7S 11S และโกลบูลินอื่นๆ และไม่เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับเมื่อปรับสภาวะของ pH ให้เป็นกลาง ถ้าค่าของ pH ต่ำลง ทำให้เกิดการแตกตัวของโครงสร้างตติยภูมิ (quaternary structure) เป็นหน่วยย่อย และไม่เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับ

ค) การของเสียสภาพโปรตีนเนื่องจากตัวทำละลาย

ตัวทำละลายต่างๆ ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน ได้แก่ methanol ethanol buthanlo acetone เป็นต้น ตัวทำละลายเหล่านี้ถ้าอยู่ในรูปของสารละลายในน้ำมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงได้มากกว่าในรูปของสารบริสุทธิ์ โดยให้การเปลี่ยนแปลงอย่างสมบูรณ์ภายในเวลาประมาณ 5 นาที จากการทดลองพบว่าตัวทำละลายที่ละลายน้ำได้ดีจะมีประสิทธิภาพมากกว่าตัวทำละลายที่ไม่ละลายน้ำ และมากกว่าตัวทำละลายบริสุทธิ์ ความสามารถของแอลกอฮอล์ที่จะเปลี่ยนสภาพโปรตีนจะมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นตามขนาดของโมเลกุล การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนมีส่วนที่ละลายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(hydrophobic groups) หันเข้าด้านใน ทำให้โมเลกุลทนต่อความร้อนในขณะอยู่ในน้ำ แอลกอฮอล์ซึ่งสามารถซึมเข้าไปด้านในของโมเลกุลได้ จึงทำให้แขนของโมเลกุลแตกหัก เมื่อเทียบกับน้ำซึ่งทำให้แขนของไฮโดรเจนแตกหักได้เฉพาะบริเวณผิว และทำให้ความมีขั้วมากขึ้น ฉะนั้นน้ำจึงอาจเป็นเหตุผลของการที่สารละลายของตัวทำละลายในน้ำมีประสิทธิภาพในการทำให้เสียสภาพมากกว่า

1.2 ไขมันจากถั่วเหลือง (soybean oil)

ไขมันเป็นส่วนประกอบที่สำคัญรองลงมาจากโปรตีนที่มีในถั่วเหลือง การสะสมปริมาณไขมันในถั่วเหลืองและปริมาณส่วนประกอบเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของพันธุ์ถั่วเหลือง และสภาพแวดล้อมในช่วงของการสะสมไขมันในเมล็ด ถั่วเหลืองของไทยมีไขมันโดยเฉลี่ยอยู่ร้อยละ16-18 ถั่วเหลืองของสหรัฐอเมริกามีไขมันสูงร้อยละ 18-20

ปริมาณกรดไขมันที่พบในถั่วเหลืองจะประกอบด้วยกรดไขมันชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยมีอัตราส่วนค่อนข้างคงที่ คือ ประมาณ 15 ต่อ 85 กรดไขมันไม่อิ่มตัวนี้พบว่ามีไขมันชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง ประมาณร้อยละ 30-40 ของกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว โดยเฉพาะพวก linoleic และ linolenic acid เป็นต้น เนื่องจากการมีพันธะคู่มากทำให้ออกซิเดชั่น (oxidation) และเกิดลักษณะเหม็นหืนได้ง่าย การป้องกันทำได้โดยเก็บถั่วเหลืองในรูปของเมล็ด หรือน้ำมันถั่วเหลืองที่อุณหภูมิเหมาะสม การกำจัดโลหะหนักโดยเฉพาะทองแดง และปริมาณของน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 คาร์โบไฮเดรท (soybean carbohydrates)

สารคาร์โบไฮเดรทที่พบในถั่วเหลืองอาจแบ่งเป็น 2 ประเภทคือ

ก) คาร์โบไฮเดรทละลายน้ำ (water soluble carbohydrate) ส่วนใหญ่ได้แก่น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำตาลโมเลกุลคู่ ได้แก่ sucrose น้ำตาลโมเลกุลสาม ได้แก่ raffinose น้ำตาลโมเลกุลสี่ ได้แก่ stachyiose ส่วนน้ำตาลโมเลกุลห้า ได้แก่ verbascose มีพบน้อยมาก โดยอยู่ในรูปของแป้งในถั่วเหลืองเมล็ดแก่ ในถั่วเหลืองพบน้ำตาลในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ glucose และน้ำตาลรีดิวส์ซิ่งอื่น ๆ อยู่ในปริมาณพอควรแต่จะลดน้อยลงเมื่อเมล็ดมีอายุมากขึ้น

ข) คาร์โบไฮเดรทที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble carbohydrate of cotyledons) ส่วนใหญ่อยู่ที่ใบเลี้ยง ได้แก่ สารพวกที่มีโครงสร้างซับซ้อนมีน้ำตาลหลายโมเลกุล ได้แก่ arabinan arabinofalactan และอาจรวมไปถึงสารในกลุ่มของเพคตินด้วย ปริมาณที่แน่นอนของคาร์โบไฮเดรทไม่ละลายน้ำยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด แต่ก็เชื่อแน่ว่ามีปริมาณไม่มากนัก ปริมาณน้ำตาลที่พบในส่วนต่าง ๆ ของถั่ว แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณน้ำตาลที่พบในส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองของสหรัฐอเมริกาและญี่ปุ่น

น้ำตาล	ถั่วทั้งเมล็ด ร้อยละ	กากถั่วเหลืองสกัดไขมันออกแล้ว ร้อยละ	ต้นอ่อนสกัดไขมันแล้ว ร้อยละ	เปลือก ร้อยละ
ถั่วเหลืองของสหรัฐ				
Sucrose	4.5	6.2	6.0	0.58
Raffinose	1.1	1.4	1.7	0.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 (ต่อ)

น้ำตาล	ถั่วทั้งเมล็ด ร้อยละ	กากถั่วเหลืองสกัดไขมันออกแล้ว ร้อยละ	ต้นอ่อนสกัดไขมันแล้ว ร้อยละ	เปลือก ร้อยละ
Starchiose	3.7	5.2	8.4	0.39
Arabinose	0.002	-	-	0.023
Glucose	0.005	-	-	0.06
ถั่วเหลืองของญี่ปุ่น				
Sucrose	5.7	7.4	9.6	0.64
Raffinose	1.1	1.4	2.1	0.16
Starchiose	4.1	5.4	6.7	0.45
Arabinose	0.001	-	-	0.023
Glucose	0.007	-	-	0.04

ที่มา : สถาบันค้นคว้าและวิจัย (2527)

1.4 เถ้าและแร่ธาตุในถั่วเหลือง (ash and mineral constituents)

ปริมาณเถ้าที่พบในถั่วเหลืองทั้งเมล็ดไม่แตกต่างทั้งในแง่ของชนิดและสภาวะการปลูกอื่นๆ โดยมีอยู่ในช่วงร้อยละ 4.5-5.3 นอกจากนั้นยังพบว่าแร่ธาตุส่วนใหญ่เป็นประเภท potassium ร้อยละ 1.83 phosphorus ร้อยละ 0.78 magnesium ร้อยละ 0.31 calcium ร้อยละ 0.24 sodium ร้อยละ 0.24 และ sulfur ร้อยละ 0.24 เป็นต้น ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ ที่พบอยู่ในปริมาณน้อยมาก ได้แก่ chloride iron manganese boron copper barium และ zinc เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.5 ไวตามิน (soybean vitamin)

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งที่มีไวตามินบีรวมค่อนข้างมาก การบริโภคไวตามินให้เพียงพอต่อความต้องการของร่างกายในแต่ละวันพบว่าปริมาณ thiamine riboflavin และ nicotinic acid มาจากถั่วเหลือง 1 ใน 3 ถึง 1 ใน 2 ส่วนของความต้องการของร่างกาย

ส่วนไวตามินละลายในไขมัน (fat soluble vitamin) ในถั่วเหลืองมี β-caroteen 2-7 ไมโครกรัมต่อกรัม แต่ถ้าถั่วเหลืองอายุมากขึ้นทำให้ปริมาณลดลงเหลือเพียง 0.2-2.4 ไมโครกรัมต่อกรัม ผลการทดลองใช้ถั่วเหลืองดิบปริมาณร้อยละ 30 หรือมากกว่าไปใช้ทำเป็นอาหารสำหรับโคนมกิน พบว่าระดับของไวตามินเอและแคโรทีนในเลือดลดลงมาก ซึ่งข้อสันนิษฐานยังไม่เป็นที่ยืนยันนักที่อาจเป็นไปได้ว่าเกิดมาจากเอนไซม์ไลปอกซิเดสในถั่วดิบ

2. คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

โปรตีนเป็นสารให้คุณค่าทางโภชนาการหลักอันหนึ่งในถั่วเหลือง ปริมาณโปรตีนที่ได้จากถั่วเหลืองนั้นในระยะเวลาการปลูก 1 ช่วง บนพื้นที่ 2.5 ไร่ พบว่าถั่วเหลืองให้โปรตีนเพียงพอสำหรับมนุษย์ซึ่งมีกิจกรรมปานกลางได้เป็นระยะเวลาประมาณ 2,220 วัน ขณะที่ข้าวสาลีให้โปรตีนเพียง 870 วัน ข้าวโพด 350 วัน และเนื้อโคเพียง 70 วัน เป็นต้น นอกจากในเรื่องของปริมาณโปรตีนที่มีอยู่สูงในถั่วเหลืองอันเป็นที่ยอมรับกันโดยทั่วไปแล้วนั้น ในด้านคุณภาพของโปรตีนเองก็นับว่ามีส่วนสำคัญต่อการศึกษาวิจัยในลำดับต่อไป

ถั่วเหลืองมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนโดยแบ่งเป็นส่วนต่าง ๆ ของถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ที่เคยชินดังในตาราง 4 ปริมาณของกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นส่วนประกอบ ได้แก่ methionine และ cystine มีอยู่ในเกณฑ์ที่ค่อนข้างต่ำทำให้เป็นตัวจำกัดคุณค่าทางโภชนาการของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปรตีนจากถั่วเหลือง การบริโภคโปรตีนจากถั่วเหลืองร่วมกับโปรตีนจากแหล่งอื่น ๆ เช่น ข้าว โปรตีนจากงา มะพร้าว และธัญพืชอื่นๆ เป็นผลให้คุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่บริโภคสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น อัตราส่วนของกรดอะมิโนจำเป็นทั้งหมดต่อไนโตรเจนทั้งหมดในแหล่งของโปรตีนต่างๆ แสดงดังตารางที่ 5

2.1 ความต้องการด้านสารอาหารโปรตีนของร่างกาย

โปรตีนเป็นสารอาหารที่จำเป็นสำหรับชีวิตมนุษย์ แหล่งสารอาหารโปรตีน ได้แก่ เนื้อสัตว์ทุกชนิด ไข่ น้ำนม ส่วนโปรตีนจากพืช เช่น สาหร่าย และพวกโปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนใหม่ที่ถูกนำมาใช้ในบทบาทของอาหารมนุษย์ขึ้นเป็นลำดับ อัตราความต้องการของสารอาหารโปรตีนขึ้นอยู่กับสภาพทางกายภาพของแต่ละคนด้วย เช่น มารดาที่ตั้งครรภ์ มารดาที่ให้นมบุตร บรรทัดฐานความต้องการสารอาหารโปรตีนได้ขึ้นกำหนดโดยหน่วยงานต่างๆ เพื่อแนะนำการบริโภคให้เกิดความพอเพียงพอแก่สุขภาพของคนทั่วไป

2.2 ความต้องการด้านกรดอะมิโนของร่างกาย

โปรตีนในถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ซึ่งแตกต่างจากโปรตีนแหล่งอื่นๆ ทำให้คุณภาพของโปรตีนและประโยชน์ต่อร่างกายมีความแตกต่างกันด้วย นักวิทยาศาสตร์ได้ทดลองจัดแยกประเภทความสำคัญและความจำเป็นต่อการใช้งานของกรดอะมิโนออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย หรือกรดอะมิโนที่ต้องบริโภคในรูปของอาหาร เพราะร่างกายจำเป็นต้องนำไปใช้งานในขบวนการสร้างหรือรักษาสมดุลย์ของไนโตรเจนในร่างกาย และกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สามารถผลิตขึ้นมาจากขบวนการชีวเคมีในร่างกายเพื่อนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของปฏิกิริยาการสร้างโปรตีนต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 ส่วนประกอบของกรดอะมิโน และคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองในผลิตภัณฑ์บางชนิด

Measurement	Soybean Fraction (Gm/ 16 Gm N)						
	Meal	Hulls	Milk	Residue	Curd	Whey Protein	Soak water
Protein content Dry basis (%)	61	9.6	-	52	102	101	(19)
Percentage of Original protein	100	-	-	26	61	6	(0.5)
Amino acid composition							
Isoleucine	5.1	3.8	5.3	6.0	5.0	5.0	(2.5)
Leucine	7.7	5.9	8.1	8.9	7.9	7.7	(4.2)
Lysine	6.9	7.1	6.7	6.1	5.7	8.7	(2.9)
Methionine	1.6	0.8	1.3	1.6	1.3	1.9	(0.5)
Cystine	1.6	1.7	1.4	0.7	1.0	1.8	(2.5)
Total S-AA	3.2	2.5	1.6	2.3	2.3	3.7	(3.0)
Phenylalanine	5.0	3.2	1.6	5.2	5.9	4.5	(3.2)
Tyrosine	3.9	4.7	1.6	3.3	4.6	4.7	(2.4)
Total aromatin AA	8.9	7.9	1.6	8.5	10.5	9.2	(5.6)
Threonine	4.3	3.7	1.6	4.7	3.8	6.2	(3.3)
Tryptophan	1.3	-	1.6	-	1.0	1.3	(0.6)
Valine	5.4	4.6	1.6	6.4	5.2	6.2	(3.1)

ที่มา : Salunkhe และคณะ (1987)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 อัตราส่วนของกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้งหมดต่อไนโตรเจนทั้งหมดในแหล่งของโปรตีนต่างๆ

แหล่งของโปรตีน	E/R Ratio (Gm/Gm Total Nitrogen)
โปรตีนจากไข่ทั้งฟอง (Whole egg Protein)	3.22
นมโค (Cow' s milk)	3.20
เนื้อวัว (Beef muscle)	2.79
เนื้อปลา (Fish)	2.66
แป้งถั่วเหลือง (Soy flour)	2.58
เมล็ดงา (Sesame seed)	2.47
เมล็ดฝ้าย (Cotton seed)	2.15
แป้งถั่วลิสง (Peanut flour)	2.08
แป้งสาลี (White wheat flour)	2.02

ที่มา : สถาบันค้นคว้าและวิจัย (2527)

ชนิดของกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายนั้น ได้แก่ isoleucine leucine lycine methionine phenylalanine threonine tryptophan และ valine สำหรับ methionine และ phenylalanine นั้นจะถูกนำไปใช้สร้างเป็นกรดอะมิโนชนิดที่เรียกว่า cystein และ tyrosine ตามลำดับได้ และที่สำคัญมากกว่าเรื่องของปริมาณความต้องการของกรดอะมิโนแต่ละชนิด คือ การที่จะบอกถึงคุณภาพของโปรตีนนั้นๆ แบบแผน (overall pattern) ของกรดอะมิโนที่จำเป็นรวมทั้งหมดหรือทุกตัวนั้นมีความสำคัญมากกว่าปริมาณที่มีของแต่ละตัวของกรดอะมิโนที่จำเป็น

2.3 สารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการในถั่วเหลือง (antinutritional factor)

แม้ว่าถั่วเหลืองจะเป็นแหล่งของสารอาหารโปรตีนของมนุษย์ แต่ถั่วเหลืองก็มีสารที่จัดว่าเป็นตัวยับยั้งกระบวนการย่อยสลายและการดูดซึมในร่างกาย การทดลองให้ผลแน่ชัดแล้วว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การนำถั่วเหลืองดิบไปเลี้ยงหนูทดลองให้อัตราการเจริญเติบโตต่ำมาก เมื่อเปรียบเทียบกับการนำถั่วเหลืองที่ผ่านความร้อนเพื่อทำให้สุกพอเหมาะ แล้วนำไปเลี้ยงหนูทดลองอีกกลุ่มหนึ่ง พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตปกติ ซึ่งจากข้อสรุปของการทดลองกับสัตว์ทดลองนี้ก็พอสรุปได้ว่าความร้อนที่พอเหมาะ (ไม่ว่าจะเป็นความร้อนชื้น หรือความร้อนแห้ง) สามารถทำลายสารต่อต้านคุณค่าทางโภชนาการจากถั่วเหลืองได้ สารดังกล่าวนี้เชื่อว่า ได้แก่ trypsin inhibitor และสารที่ไม่ใช่โปรตีนคือ saponins เป็นต้น

ผลของการใช้ถั่วเหลืองเป็นอาหาร

ถั่วเหลืองเป็นธัญพืชที่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูงในแง่ของสารอาหารโปรตีนและไขมันที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในด้านอาหาร อย่างไรก็ตามในเรื่องของการบริโภคย่อมจำเป็นต้องอาศัยความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องต่อการนำถั่วเหลืองไปประกอบอาหารเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด แบ่งผลของการใช้ถั่วเหลืองออกเป็น 2 ประเด็นหลักๆ

1. ผลในแง่ดี การบริโภคถั่วเหลืองอย่างถูกต้องโดยผ่านกระบวนการเตรียมเป็นอาหารนานาชนิดที่เหมาะสมก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายและประโยชน์ต่อสังคม

2. ผลในแง่เสีย เป็นผลอันเนื่องมาจากส่วนประกอบของถั่วเหลืองเอง และปัจจัยจากการยอมรับของร่างกายของผู้บริโภคแต่ละบุคคล เช่น อาการแพ้ (allergenic factors) แต่พบน้อยมาก เมื่อเทียบกับอัตราการเพิ่มขึ้นของผู้บริโภคอาหารจากถั่วเหลือง นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดอาการท้องอืด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นมถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์

ถั่วเหลืองนำมาทำผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิดโดยเฉพาะนมถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมอย่างกว้างขวางเตรียมได้จากการสกัดถั่วเหลืองบดด้วยน้ำ ถั่วแห้ง 1 กิโลกรัมเมื่อนำมาทำนมถั่วเหลืองโดยการสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 จะได้นมถั่วเหลืองประมาณ 6.5 ลิตร และมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ ปริมาณของแข็งร้อยละ 8.99 โปรตีนร้อยละ 3.55 ขณะที่นมโคมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.69 (Metwalli และ Shalabi, 1982) แสดงว่านมถั่วเหลืองมีคุณค่าทางอาหารที่ใกล้เคียงกับนมโค นักโภชนาการจึงสนับสนุนให้มีการดื่มนมถั่วเหลืองทดแทนน้ำนมโคเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบนมจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่น ๆ พบว่ามีองค์ประกอบของกรดอะมิโนในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่นมถั่วเหลืองมีกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบต่ำกว่านมชนิดอื่น ๆ Shupelakar (1965) ได้รายงานว่าถ้าเสริม methionine ลงในน้ำนมถั่วเหลืองจะทำให้มีคุณค่าทางอาหารเท่าเทียมกับน้ำนมโค Hackler (1965) พบว่า นมถั่วเหลืองมีคุณค่าทางอาหารโปรตีนมากที่สุดเมื่อได้รับความร้อน 212 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที หรือที่ 93 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที เนื่องจากทำลายสาร trypsin inhibitorได้ถึงร้อยละ 90 Escueta และ Bangen (1977) รายงานว่าไม่พบปฏิกิริยา trypsin inhibitor ในนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วที่แช่น้ำก่อนแล้วจึงแช่ในน้ำเดือดนาน 2 นาที แต่ถั่วที่ไม่แช่น้ำก่อนต้องใช้เวลาในการแช่ในน้ำเดือดถึง 5 นาทีจึงจะให้ผลเหมือนกัน Johnson และคณะ (1981) พบว่านมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 99 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ทำให้ปฏิกิริยา trypsin inhibitor ลดลงถึงร้อยละ 90 และ มีโปรตีนที่สกัดได้ร้อยละ 73 แต่วิธีให้ความร้อนแบบ steam Infusion ที่อุณหภูมิ 154 องศาเซลเซียส นาน 34 วินาที พบปฏิกิริยาของ trypsin inhibitor เหลืออยู่น้อยกว่าร้อยละ 8 และ มีโปรตีนสกัดได้ร้อยละ 90

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กรรมวิธีการเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง

สำหรับกรรมวิธีการทำน้ำนมถั่วเหลือง ได้มีผู้ค้นคว้าวิจัยและทดลองกันมากมาย ทั้งนี้ก็เพื่อจุดประสงค์ของการที่จะให้ได้มาซึ่งน้ำนมถั่วเหลืองที่มีคุณภาพทั้งทางรสชาติและทางกายภาพเป็นไปตามความยอมรับของผู้บริโภคแต่ละท้องถิ่น กรรมวิธีการทำน้ำนมถั่วเหลืองมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน โดยเริ่มตั้งแต่วิธีง่าย ๆ ที่ทำกันในบ้าน ซึ่งเป็นวิธีของจีนโบราณจนถึงวิธีสมัยใหม่ในอุตสาหกรรม โดยมีกระบวนการที่ซับซ้อน กรรมวิธีที่ทำอยู่อาจแบ่งออกเป็น 4 แบบ

1. การใช้น้ำสกัด (water extract process)
2. วิธีการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ (water emulsion process)
3. การใช้โปรตีนบริสุทธิ์ (protein isolate process)
4. การใช้แป้งถั่วเหลืองในไขมันเต็ม (full fat soy flour process)

แต่ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้วิธีการใช้น้ำสกัดจากเมล็ดถั่วเหลือง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

วิธีการใช้น้ำสกัด (water extract process)

การทำน้ำนมถั่วเหลืองแบบนี้เป็นวิธีการที่ใช้กันมานานจนถือว่าเป็นวิธีเก่าแก่ที่สุดวิธีหนึ่ง โดยใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดนำมาแช่น้ำให้นิ่มตัว และจะพองตัวขึ้นอีก 1.0-1.2 เท่า ระยะเวลาการแช่เพื่อให้ถั่วนิ่มอาจใช้เวลาตั้งแต่ 1 ชั่วโมง ถึง 20 ชั่วโมง แล้วแต่อุณหภูมิของน้ำที่แช่ถั่วเหลือง ถ้าใช้น้ำอุณหภูมิสูงเมล็ดถั่วเหลืองจะนิ่มตัวเร็วกว่าการใช้น้ำอุณหภูมิต่ำ จากนั้นนำถั่วเหลืองบดกับน้ำในสัดส่วนที่ต้องการ และกรองเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำออกไป น้ำที่กรองออกมาได้จะมีลักษณะคล้ายน้ำนม และมีกลิ่นเหม็นเขียวตามลักษณะของถั่วเหลือง ปัจจุบันได้มีการค้นคว้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

43979

วิจัยทดสอบที่จะทำลายกลิ่นถั่วเหลืองให้หมดไปโดยวิธีการต่างๆ เช่น การใช้อุณหภูมิ เวลา หรือสารเคมี เช่น แอลกอฮอล์

ขั้นตอนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองโดยการใช้น้ำสกัดนั้นอาจกล่าวโดยสรุปดังต่อไปนี้

1) ถั่วเหลืองนำมาผ่านการคัดเลือกเอาเมล็ดเสีย ลีบ เน่า และสิ่งที่ไม่ต้องการอื่นๆ เช่น ดิน หิน โลหะ ฝุ่น เป็นต้น จากนั้นจึงนำมาโม่ผ่าซีก เพื่อแยกเอาเปลือกออกบางส่วน หรืออาจไม่ผ่าซีกก็ได้

2) ล้างน้ำให้สะอาด เพื่อเอาฝุ่นละอองออกไป

3) แช่น้ำให้นิ่มตัว อุณหภูมิในการแช่ขึ้นอยู่กับความต้องการในการกำจัดกลิ่นถั่ว ถ้าแช่ที่อุณหภูมิสูงกลิ่นถั่วจะลดลง โดยอัตราส่วนของถั่วต่อน้ำ ไม่น้อยกว่า 1 ต่อ 3

4) ล้างให้สะอาด และเป็นการกำจัดเอาเปลือกถั่วที่หลุดออกมาจากใบเลี้ยง ทั้งนี้เพราะส่วนนี้ถือเป็นส่วนที่ไม่ต้องการเพราะไม่ใช่สารอาหารที่มีคุณค่าต่อร่างกาย

5) บดให้ละเอียดซึ่งอาจทำได้โดยการใช้โม่หิน หรืออาจเป็นเครื่องบดที่มีประสิทธิภาพสูง การบดจะใช้น้ำบางส่วนร่วมด้วย เพื่อทำให้การบดเป็นไปได้อย่างสะดวกและต่อเนื่องและการบดนี้จะบดให้ละเอียดที่สุดเท่าที่ทำได้ อัตราส่วนของน้ำต่อถั่วเหลืองหลังจากบดแล้ว อาจเป็นอัตราส่วน 10 ต่อ 1

6) กรองเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก การทำในปริมาณน้อยอาจใช้ผ้าขาวบางกรอง ในอุตสาหกรรมจะใช้เครื่องกรอง

7) ต้มให้สุก น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดออกมาแล้วจะนำมาต้มให้สุกก่อน เพื่อทำลายและหยุดยั้งปฏิกิริยาทางเคมีที่จะมีขึ้น เช่น การเปลี่ยนแปลงของกลิ่น รส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8) การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization) นมถั่วเหลืองที่ได้จะยังไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน จำเป็นต้องผ่านการโฮโมจิไนซ์ แล้วจะมีความข้นใส (viscosity) เพิ่มขึ้นเล็กน้อยและมีรสชาติ สม่ำเสมอกันโดยตลอด โดยใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ที่ความดันประมาณ 3,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้วและอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 70 องศาเซลเซียส

ในด้านโภชนาการและการแพทย์แล้วน้ำนมถั่วเหลืองมีคุณภาพด้อยกว่าน้ำนมของวัว ดังแสดงในตารางที่ 6 ทั้งนี้ก็เนื่องด้วยปัจจัยหลายด้าน เช่น

1. โปรตีน ชนิดของโปรตีนมีอัตราส่วนของกรดอะมิโนในปริมาณไม่ครบถ้วนตามความต้องการของร่างกาย กล่าวคือมีกรดอะมิโนซัลเฟอร์ ได้แก่ methionine และ cystine ในปริมาณต่ำ การศึกษาทดลองวิจัยเพื่อเพิ่มคุณภาพของโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยเพิ่มระดับของ methionine ให้สูงขึ้นตามข้อแนะนำของFAOพบว่าคุณภาพของโปรตีนทางชีวเคมีมีประสิทธิภาพมากขึ้น การเสริมด้วย L-methionine จึงเป็นวิธีการอันหนึ่งที่นำมาใช้กันโดยทั่วไป

2. ไขมัน เนื่องจากปริมาณไขมันในน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการสกัดโดยวิธีมีเพียงร้อยละ 1 ซึ่งต่ำกว่าที่พบในน้ำนมวัว แต่ไขมันในนมถั่วเหลืองประกอบด้วยกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ กรดลิโนลีอิก ฉะนั้นนมถั่วเหลืองจึงมีข้อเสียเปรียบในด้านปริมาณของไขมันที่มีอยู่ แต่ถ้าเพิ่มไขมันคุณภาพสูงเข้าไปจะทำให้น้ำนมถั่วเหลืองนั้นมีคุณภาพใกล้เคียงนมวัวมากขึ้น

3. ไวตามินและแร่ธาตุ พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองมีไวตามินและแร่ธาตุโดยรวมน้อยกว่าในนมวัวมาก ทำให้มีผลต่อคุณภาพโดยทั่วไปของนมถั่วเหลืองเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมวัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ส่วนประกอบของน้ำนมถั่วเหลืองที่ทำ โดยวิธีการใช้น้ำสกัดเปรียบเทียบกับน้ำนมวัว

ส่วนประกอบ	น้ำนมถั่วเหลือง (กรัม)	นมวัว (กรัม)
น้ำ	92.50	87.00
โปรตีน	3.40	3.50
ไขมัน	1.50	3.90
คาร์โบไฮเดรต	2.10	4.90
เถ้า	0.50	0.70
แคลเซียม	21.0 (มิลลิกรัม)	118.00 (มิลลิกรัม)
ฟอสฟอรัส	47.0 "	93.0 "
ไทอามีน (Thaiamine)	0.09 "	0.04 "
ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)	0.04 "	0.17 "
ไนอาซิน (Niacin)	0.30 "	1.00 "

ที่มา : Lee และคณะ (1990)

Wilken และคณะ (1967) รายงานว่าการเกิดกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเกี่ยวข้องกับสารประกอบที่ระเหยได้ อันมีสาเหตุสำคัญมาจากเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส (lipoxygenase) ซึ่งมีอยู่แล้วในถั่วเหลืองตามธรรมชาติ เอนไซม์นี้นอกจากพบในถั่วเหลืองแล้วยังพบในพวกธัญพืชอื่น ๆ เช่น ข้าวสาลี เมล็ดพืชน้ำมัน และในพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ จะเห็นได้ว่าถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีเอนไซม์นี้มากที่สุด ดังตารางที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ระดับของปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส

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

ที่มา : Tannenbaum และคณะ (1985)

คุณสมบัติและการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส

คุณสมบัติเฉพาะของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส

เอนไซม์ไลปอกซีเจเนสเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreducatase หรือที่เรียกว่า linoleate : oxygen oxidoreductase หรือ EC 1.13.11.12 พบมากในเมล็ดถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merr.) ประมาณร้อยละ 2 ของโปรตีนทั้งหมด เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา hydroperoxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่อยู่ในรูป cis form เช่น linolenic และ linoleic acid ที่มีโครงสร้างมี cis, cis-1,4-pentadiol (Axelrod และคณะ, 1981) เอนไซม์ไลปอกซีเจเนสมีโครงสร้างที่ไม่ซับซ้อน โดย Strvens และคณะ (1970) พบว่าประกอบด้วย 2 หน่วยย่อย 2.8 S และ 6.3 S ประมาณร้อยละ 85 และ 15 ตามลำดับ มีน้ำหนักโมเลกุล 108,000 และ isoelectric point เท่ากับ 5.4

เอนไซม์ไลปอกซีเจเนส ประกอบด้วย 3 ไอโซไซม์ คือ ไลปอกซีเจเนส-1 (L-1), ไลปอกซีเจเนส-2 (L-2), และ ไลปอกซีเจเนส-3 (L-3) มี pH ที่เหมาะสมคือ 9.0 6.5 และ 7.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามลำดับ (Axelrod และคณะ, 1981) น้ำหนักโมเลกุลของ L-1 L-2 และ L-3 เท่ากับ 94,000 96,500 และ 97,000 และประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 838 865 และ 859 โมเลกุล และค่า isoelectric point เท่ากับ 5.88 6.25 และ 6.15 ตามลำดับ (Christopher และคณะ, 1972 ; Shibata และคณะ, 1987, 1988)

<u>วิธีการสังเคราะห์และบทบาทของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนสที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเขียว</u>

Tappel และคณะ (1952) ได้ศึกษาการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีจีเนสต่อการกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของ linoleate ดังแสดงในภาพที่ 1 ปฏิกิริยาเริ่มต้นจากการรวมตัวของ linoleate ออกซิเจน และเอนไซม์ ในขั้นที่สอง มีการเคลื่อนย้ายอิเล็คตรอน และ H^+ จาก linoleate ไปยังออกซิเจนที่ผิวของเอนไซม์ทำให้เกิดคู่อนุมูล (biradical) ในขั้นที่สาม อนุมูลดังกล่าวทำปฏิกิริยาเกิดการเชื่อมเป็นเปอร์ออกไซด์ (conjugated peroxide) และขั้นที่สี่ เปอร์ออกไซด์จะแยกตัวออกจากเอนไซม์

ต่อมา Hildebrand (1989) ได้แสดงการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีจีเนส (LOX) เป็นขั้นตอนต่างๆ 5 ขั้นตอนดังภาพที่ 2 คือ ปฏิกิริยาเริ่มต้นจากกรดลิโนลีอิค และลิโนลีนิค มีการเคลื่อนย้าย H^+ เป็นแบบ stereospecific ที่ตำแหน่ง C11 ทำให้มีการจัดเรียงตัวใหม่เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ต่อมาเกิดปฏิกิริยาที่ตำแหน่ง C13 เอนไซม์จะถูกรีดิวส์จาก Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} และกรดไขมันรวมตัวกับเอนไซม์เป็นอนุมูล lox-fatty acid radical complex ขั้นตอนต่อมาออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลดังกล่าวได้ lipid peroxy radical ในขั้นตอนนี้ปฏิกิริยาเกิดในสภาพที่มีออกซิเจนเท่านั้น ถ้าไม่มีออกซิเจนอนุมูลกรดไขมันจะถูกปลดปล่อยจากเอนไซม์ไลปอกซีจีเนสและเกิดปฏิกิริยาได้อนุมูล linoleoyl radical และ linolenyl radical โดยทั่วไปแล้ว อนุมูลกรดไขมันและอนุมูล peroxy fatty acid radical จะเชื่อมต่อกับเอนไซม์ LOX ปฏิกิริยาต่อมา

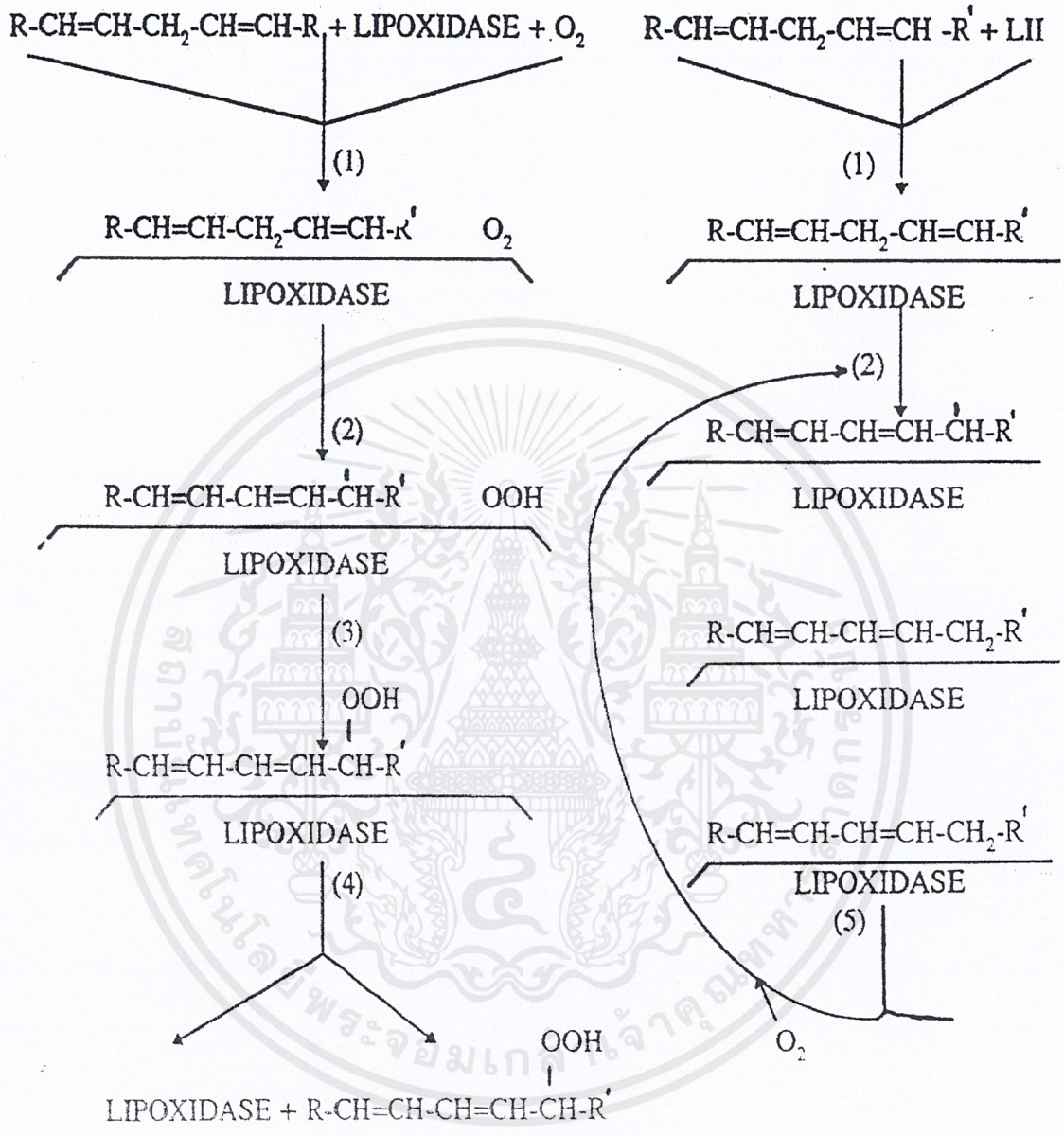
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกิดปฏิกิริยารีดักชันเติม H^+ ที่อนุมูล fatty acid peroxy radical เกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และเอนไซม์ LOX ถูกออกซิไดซ์กลับมาเป็นFe^{3+} แล้วมีการปลดปล่อยกรดไขมัน และเอนไซม์แยกออกจากกัน ขั้นสุดท้าย fatty acid hydroperoxides ถูกย่อยโดยเอนไซม์ไลเอส ได้สารสุดท้าย C-6 และ C-12 ถ้ามาจาก linoleic acid จะได้ hexanal และ 12-oxo-cis และถ้ามาจาก linolenic acid จะได้ cis-3- hexenal และ 12-oxo-cis ทั้ง hexanal และ hexenal มักเปลี่ยนเป็น cis-3- hexanal และ trans-2-hexenal โดยเอนไซม์ alcohol dehydrogenese ซึ่งเป็นสารที่มีกลิ่นเหม็นเขียว (green odor) คล้ายกับกลิ่นที่เกิดขึ้นภายหลังจากตัดหญ้า

โดยทั่วไปน้ำมันถั่วเหลืองประกอบด้วย linolenic acid (18:3) อยู่ร้อยละ 7 ถึง 9 และ linoleic acid (18:2) ประมาณร้อยละ 55 การออกซิเดชันของกรดไขมันในเวลาเก็บรักษาเมล็ดถั่วเหลืองเป็นปัญหาใหญ่ของโรงงานอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์อาหารเพราะสารประกอบที่ระเหยได้และไม่ได้เหล่านี้ มีกลิ่นเหม็นโดยเฉพาะสารประกอบพวก n-hexanal 2-furan 3-cis-hexenal n-pentylfera และ ethyl vinyl ketone เป็นตัวสำคัญที่มีกลิ่นเหม็นเขียวและกลิ่นถั่ว (grassy-beany) (Rackis และคณะ, 1979)

Matoba และคณะ (1985) ตรวจสอบการเกิดกลิ่นของถั่วเหลืองพันธุ์ "Suzuyutaka" และสายพันธุ์ที่ปราศจากเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส 3 สายพันธุ์คือ L-1 null L-2 null และ L-3 null โดยใช้สัญลักษณ์ -L1 null -L2 null และ -L3 null ตามลำดับ พบว่า L-2 เป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดต่อการเกิด hexanal

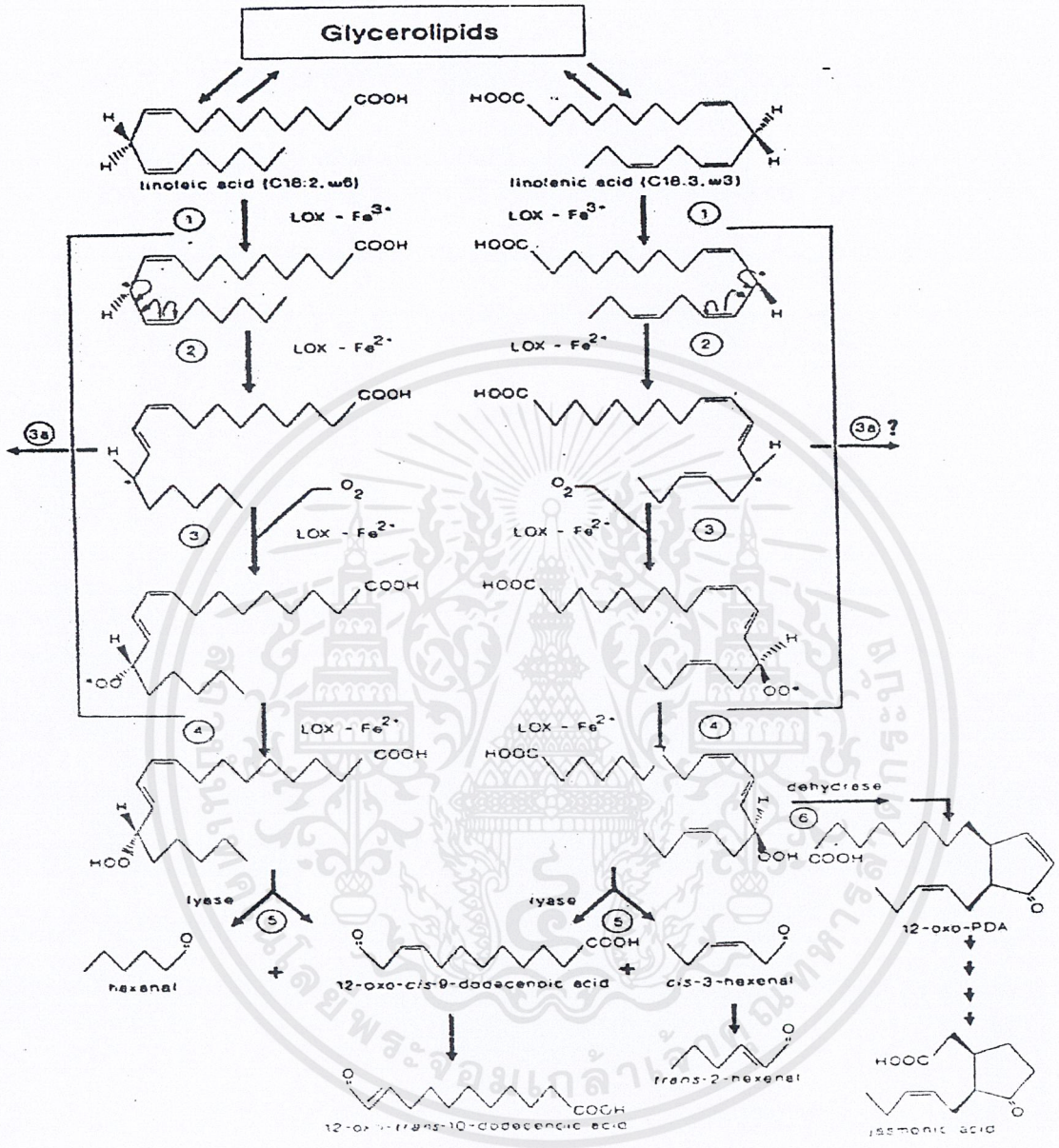
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 กลไกที่เอนไซม์ไลปอกซีเจเนสกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนลีเอท

ที่มา : Tappel และคณะ (1952)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แสดงกลไกการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส (LOX)

ที่มา : Hildebrand และคณะ (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมา Hildebrand และคณะ (1990) ศึกษาการเกิด hexanal ของเมล็ดถั่วเหลืองสายพันธุ์ที่ปราศจากเอนไซม์ไลปอกซีเจเนสต่างๆกัน Davies และ Nielsen (1987) ใช้วิธีการผสมกลับ สร้างสายพันธุ์ $-L_2L_3$ $-L_1L_3$ $-L_2$ $-L_3$ และ$-L_1$ โดยผลการทดลองพบว่า isozymelipoxygenese-3 ช่วยลดการเกิด hexanal โดยการเปลี่ยนสาร 13-hydroperoxy-9, 11-octadecadienoic acid เป็นสารที่ไม่สามารถเปลี่ยนไปเป็น hexanal และไม่มีอิทธิพลต่อการเกิด hexanal ด้วย เมล็ดถั่วเหลืองจำเป็นต้องมี isozymelipoxygenese-3 เพราะช่วยลด hexanal แต่ผลที่ได้ยังไม่ยืนยันแน่ชัด เพราะยังขาดสายพันธุ์ที่ปราศจาก isozyme L-1 และ L-2 เนื่องจากยีนที่ควบคุม isozyme ทั้งสองไม่เป็นอิสระต่อกัน Takamura และคณะ (1991) ได้ศึกษาบทบาทของ isozymelipoxygenese-3 ต่อการเกิด n- hexanal โดยใช้พันธุ์ถั่วเหลืองที่ปราศจาก isozyme ชนิดต่างๆ คือ L-1 L-2 L-3 deficient L-2 L-3 deficient L-1 L-3deficient L-1 L-2 deficien และพันธุ์ wild type พบว่าการเกิด n- hexanal มีมากที่สุดในสายพันธุ์ที่ปราศจาก L-1 L-3 รองลงมาได้แก่สายพันธุ์ที่ปราศจาก L-2 L-3 wild type และสายพันธุ์ที่ปราศจาก L-1 L-2 L-3 ส่วนสายพันธุ์ที่ปราศจาก L-1 L-2 พบว่ามี hexanal เกิดขึ้นน้อยที่สุด เขาอธิบายว่า isozymelipoxygenese-3 ไม่สามารถทำให้เกิด n-hexanal ได้ และกลับเป็นตัวยับยั้งการเกิด n–hexanal ในกระบวนการทางชีวเคมีอื่นๆ

<u>การลดกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลือง</u>

นมถั่วเหลืองได้จากการสกัดของเหลวจากถั่วเหลืองผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะคล้ายนมโค จึงใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับเด็กอ่อนและเด็กเล็ก แต่นมถั่วเหลืองไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลิ่นเหม็นเขียว เป็นข้อจำกัดการบริโภคสำหรับผู้ที่ไม่คุ้นเคยกับนมถั่วเหลือง จึงได้มีการศึกษาหาทางลดกลิ่นถั่ว ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีคือ

1. การให้ความร้อนต่อเมล็ดถั่วเหลืองก่อนหรือระหว่างการแปรรูป เพื่อระงับการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีเจเนส หรือระงับขบวนการออกซิเดชันของไขมัน

2. การสกัดเอาไขมันออกเพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นเขียว

3. การใช้ขบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกที่เหมาะสม ซึ่งวิธีนี้ได้ประสบผลสำเร็จมาแล้วในการใช้เชื้อรา เช่น *Rhizopus oligosporus* *Neurospora sitophila* *Aspergillus oryzae* ตลอดจนแบคทีเรีย *Bacillus natto* (Kanda และคณะ, 1976)

Kellogg (1934) เป็นผู้ริเริ่มการใช้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในการหมักนมถั่วเหลืองเพื่อทำผลิตภัณฑ์เลียนแบบเนย โดยใช้ *Lactobacillus acidophilus* ต่อมา Gehrke และ Weiser (1947) ได้ค้นพบว่านมถั่วเหลืองจัดเป็นอาหารที่ดีของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก แต่ปริมาณกรดที่ได้จะน้อยกว่าการใช้นมโค *Streprococcus lactis* สามารถสร้างกรดแลคติกในนมถั่วเหลืองได้เพียงครึ่งเดียวของนมโค และไม่พบความแตกต่างของกรดไขมันที่ระเหยได้ในนมทั้ง 2 ตัวอย่างเลย

<u>การสร้างกรดแลคติกในนมถั่วเหลือง</u>

เชื้อ *Streprococcus thermophilus* มีความสามารถสร้างกรดแลคติกในนมถั่วเหลืองได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆ โดย Matsuoka และคณะ (1967) พบว่า *S. thermophilus* ผลิตกรดแลคติกได้ดีกว่า *Lactobacillus bulgaricus* และ *S. lactis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ปรากฏว่าผลิตภัณฑ์เลียนแบบเนยแข็งที่ผลิตจากถั่วเหลืองมีสีคล้ำอย่างมากในระหว่างการเลี้ยงเชื้อ

Kim และ Shin (1971) ก็พบทำนองเดียวกันว่า *S. thermophilus* สร้างกรดแลคติกได้ดีกว่า *Streprococcus cremoris* และ *L. bulgaricus* อย่างไรก็ดีผลการทดลองจากนักวิจัยหลายคณะพบว่าปริมาณกรดที่เกิดจาก *S. lactis* subsp. *diacetylactis* มีค่าใกล้เคียงกับ *S. thermophilus*

Yamanaka และ Furukawa (1970) ศึกษาการสร้างกรดแลคติกในนมถั่วเหลืองและนมถั่วเหลืองผสมหางนม เปรียบเทียบกับการใช้หางนมล้วนๆ พบว่า *S. thermophilus* *Lactobacillus casei* *Streprococcus faecalis* *L. acidophilus* และ *L. bulgaricus* สร้างกรดแลคติกได้มากในนมถั่วเหลือง (ร้อยละ 70) ผสมหางนม (ร้อยละ 30) ส่วนในหางนมจะเกิดกรดน้อยกว่า เมื่อเพิ่มปริมาณ glucose ในนมผสมพบว่าเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดสามารถสร้างกรดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การเพิ่ม sucrose นั้น *L. acidophilus* เป็นเชื้อชนิดเดียวที่ให้กรดเพิ่มขึ้น แสดงว่าความแข็งของก้อนโปรตีนจะยิ่งมีมากขึ้นตามปริมาณของนมถั่วเหลืองที่ใช้ เรณู ปิ่นทอง และคณะ (1980)ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากนมถั่วเหลือง พบว่าเมื่อใช้เชื้อ *L. bulgaricus* บ่มในน้ำนมถั่วเหลืองที่มี glucose ร้อยละ 1 และ yeast extract ร้อยละ 0.1 ได้ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่มีความเป็นกรดอย่างเพียงพอ และผลการตรวจสอบรสชาติพบว่านมถั่วเหลืองที่หมักด้วย *L. bulgaricus* มีรสชาติดีที่สุด และผลจากการวิเคราะห์หาสารที่ระเหยได้ที่เกิดขึ้นขณะทำการหมักพบว่าปริมาณ acetaldehyde acetone methanol ethanol n-penthanol และ n-hxanol มีระดับที่แตกต่างกันเมื่อหมักด้วยวิธีต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Angeles และ Marth (1971) ได้พบว่าปริมาณกรดแลคติกในนมถั่วเหลืองไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยพบว่า *Lactobacillus delbrueckii* *S. thermophilus* *Lactobacillus plantarum* และ *Leuconostoc dextranicum* ให้ปริมาณกรดได้มากกว่าเมื่อเทียบกับแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆเพราะว่าจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถใช้ sucrose ได้ดี การสร้างกรดของ *S. lactis* *S. cremoris* *S. lactis* subsp. *diacetylactis* *L. casei* และ *L. helbeticus* ในนมถั่วเหลืองที่ผสมglucose และผงหางนมหรือ lactose พบว่าชนิดของคาร์โบไฮเดรทในนมถั่วเหลือง หรือชนิดของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะเป็นปัจจัยที่ควบคุมการสร้างกรดแลคติก

Mital และคณะ (1974) ทดสอบแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในการใช้น้ำตาลโมเลกุลสั้นๆ ในนมถั่วเหลืองพบว่า *S. thermophilus* *L. acidophilus* *L. cellobiose* และ *L. plantarum* สามารถเจริญและการสร้างกรดปริมาณมากซึ่งแตกต่างจากเชื้อชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน *L. buchner* ใช้ sucrose จากนมถั่วเหลืองเพื่อการเจริญและสร้างกรดได้น้อยกว่าสำหรับ *L. bulgaricus* ให้การเจริญเติบโตและการสร้างกรดได้น้อยมาก เพราะไม่สามารถใช้คาร์โบไฮเดรทในนมถั่วเหลืองได้

การศึกษาเกี่ยวกับการสลายโปรตีน และไขมันของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในนมถั่วเหลือง พบว่าเชื้อที่ใช้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถย่อยไขมันของถั่วเหลืองได้ ยกเว้น *L. casei* *L. delbrueckii* และ *S. thermophilus* ที่มีความสามารถปลดปล่อยกรดไขมันอิสระได้เล็กน้อย (นุชรีย์ บูรณะชัชวาลย์ และคณะ 2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา

การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อราได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่า เทมเป้ ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารสูง เชื้อราที่มีบทบาทในการหมักเทมเป้ ได้แก่ เชื้อราในสกุลของ *Rhizopus* หลายสายพันธุ์ *R. oryzae* *R. oligosporus* *R. aclamydosporus* *R. arrchinus* *R. cohnii* *R. formorsaesis* *R. stolonifer* และ *R. chinensis* โดยที่ *R. oligosporus* และ *R. formorsaesis* เหมาะสมสำหรับการหมักถั่วเหลืองเพื่อผลิตเทมเป้ และได้มีการคัดเลือกได้หลายสายพันธุ์ด้วยกัน เช่น *R. oligosporus* สายพันธุ์ NRRL 1521 NRRL 2710 NRRL 5905 และ CBS 338.62 เป็นต้น (นภา โล่ห์ทอง, 2535) ลักษณะการเจริญและรูปร่างของ *R. oligosporus* แสดงในภาพที่ 3 และ 4 สมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *R. oligosporus* มีดังนี้ (นภา โล่ห์ทอง ,2535)

1. เจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 30-42 องศาเซลเซียส และเมื่อ pH ของถั่วเหลืองลดลงประมาณ 4.0 เชื้อราจะเจริญและสร้างเส้นใยขึ้นปกคลุมทั่วทั้งก้อนภายใน 18-20 ชั่วโมง ทำให้จุลินทรีย์อื่น ๆ เจริญแข่งขันได้ยาก

2. เป็นเชื้อราที่ไม่สามารถใช้ sucrose ได้ คุณสมบัตินี้มีผลดีต่อการหมักเทมเป้ เนื่องจากเมล็ดถั่วเหลืองที่นึ่งสุกแล้วจะประกอบด้วย sucrose stachyiose และ raffinose เท่ากับร้อยละ 1.84 1.40 และ 0.35 ของน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในการหมักเชื้อราจะใช้ sucrose หมดไปก่อนจึงเริ่มใช้น้ำตาลชนิดอื่น ซึ่งเป็นขณะกิจกรรมการหมักเสร็จสิ้น ดังนั้นเทมเป้ที่ผลิตได้จึงยังคงมี stachyiose ที่เหลืออยู่ในปริมาณค่อนข้างมาก จึงทำให้ผู้บริโภคมีอาการท้องอืดเนื่องจากไม่สามารถย่อยน้ำตาลนี้ได้ เป็นอาการเดียวกับที่ผู้บริโภคนมที่ขาดน้ำย่อยแลคเตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นเมื่อสายพันธุ์เชื้อราที่คัดเลือกไม่สามารถใช้ sucrore เมื่อเริ่มเจริญเชื้อราจะใช้ stachyiose ทันทีทำให้น้ำตาลนี้หมดไปหรือเหลืออยู่น้อยมาก

3. เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส พบว่าเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตโดย *R. oligosporus* นั้นมีทั้งเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยที่ดีที่สุดที่ pH ประมาณ 3 และเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยสูงสุดที่ pH 5 เอนไซม์ทั้งสองจัดเป็นเอนไซม์ซึ่งมีสมบัติที่ดีต่อการหมักเทมเป้ เนื่องจากในขณะที่แช่น้ำนั้นจะมีกิจกรรมการหมักของแบคทีเรียบางชนิดมีผลต่อการผลิตวิตามินบี 12 และแบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตกรดทำให้ pH ของถั่วเหลืองลดลงในระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ในปัจจุบันนิยมแช่ถั่วเหลืองในน้ำซึ่งเติมกรดแลคติก

การที่สายพันธุ์ที่คัดเลือกมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสสูง ทำให้การย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองดำเนินไปอย่างรวดเร็ว และปลดปล่อยแอมโมเนียในปริมาณมากพอที่จะยับยั้งไม่ให้เชื้อราเจริญต่อ ซึ่งในช่วงระยะเวลาการหมัก 24-48 ชั่วโมงนี้ เชื้อราจะสร้างสปอร์ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะไม่น่ารับประทาน ดังนั้นการปลดปล่อยแอมโมเนียจึงเท่ากับเป็นการหยุดกิจกรรมการหมัก นอกจากนี้การที่เชื้อสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดี โปรตีนจะเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนในปริมาณมาก ทำให้เทมเป้เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและย่อยง่าย

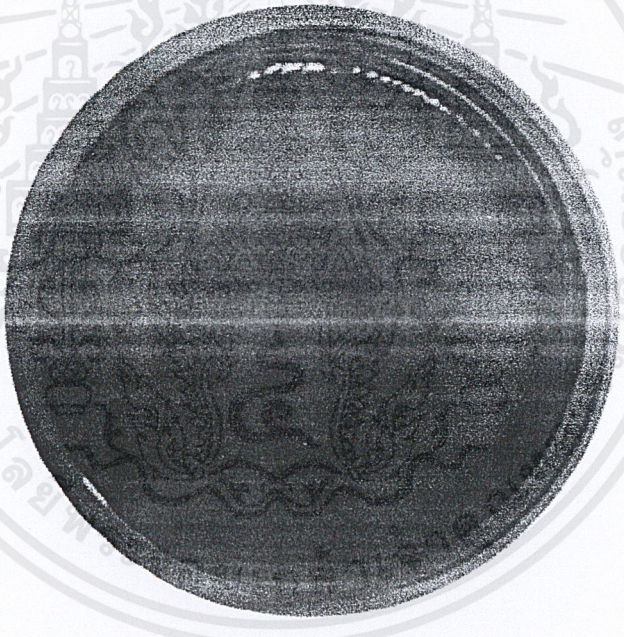
4. สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสย่อยไขมันในเมล็ดถั่วเหลือง ดังนั้นเทมเป้จึงประกอบไปด้วยกรดไขมันหลายชนิดเช่น linoleic acid oleic acid palmitic acid linolenic acid และ stearic acid เป็นต้น

5. สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลล์พืช เช่น cellulase cylanase arabinase เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

7. สามารถผลิตเอนไซม์ phytase ทำให้ phytic acid ในถั่วเหลืองลดปริมาณลง เทมเป้ที่ผลิตโดยใช้ *R. oligosporus* เหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค



ภาพที่ 3 แสดงการเจริญของเชื้อ *Rhizopus oligosporus* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4 ภาพของเชื้อ *Rhizopus oligosporus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2536)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3

ขั้นตอนการดำเนินงาน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

    - ถั่วเหลืองตราไร่ทิพย์
    - อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

2. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

    - เชื้อรา *Rhizopus oligosporus*

3. เครื่องมือที่ใช้

    - หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ
    - เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (SHIMADZU UV-1601)
    - เครื่องปั่นอเนกประสงค์ (DYNAMICS CORPORATION OF AMERICA Model 34 BL(8012))
    - เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วรอบสูง (HERMLE Z 383 K)
    - ตู้บ่มเชื้อควบคุมอุณหภูมิ
    - เครื่องชั่งละเอียด (METTLER TOLEDO S/N 1116073951)
    - ตู้อบลมร้อน
    - อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ
    - ตู้ปลอดเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กล้องจุลทรรศน์

4. เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่จำเป็นอื่นๆ

วิธีการดำเนินงาน

1. การเตรียมเชื้อที่จะใช้ในการทดลอง

เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เจริญบนอาหารแข็งเอียง (PDA slant) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน จนกระทั่งเชื้อสร้างสปอร์ แล้วนำมาเตรียมสารละลายสปอร์โดยใช้สารละลาย tween 80 เข้มข้นร้อยละ 0.1 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำสารละลายสปอร์ที่ได้มาปรับให้มีความเข้มข้น 10^6 สปอร์/มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายสปอร์ 1 มิลลิลิตร ใส่ในแป้งมันสำปะหลังปลอดเชื้อ (อบที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง) น้ำหนัก 1 กรัม ผสมให้เข้ากันเพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับการทดลองต่างๆ

2. การเตรียมนมถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการทดลอง

การศึกษาวิธีการแช่ถั่วในสภาวะต่าง ๆ เพื่อเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง

2.1 แช่ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

2.2 แช่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

2.3 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

2.4 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 10 นาที

2.5 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที

2.6 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 30 นาที

2.7 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

2.8 แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำถั่วเหลืองที่แช่ในสภาวะต่างๆ ปริมาณ 100 กรัม มาผสมกับน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องปั่นอเนกประสงค์ที่ความเร็วรอบสูงสุด เป็นเวลา 1.5 นาที เพื่อตีปั่นให้ถั่วเหลืองแตกละเอียดผสมรวมตัวกับน้ำ จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

3. การหมักถั่วเหลืองโดยเชื้อ *Rhizopus oligosporus*

นำถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ด้วยวิธีในข้อ 2.1, 2.2 และ 2.5 มานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงจึงนำหัวเชื้อในรูปของแป้งมันสำปะหลังนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างถั่วเหลืองหมักจำนวน 100 กรัม ทุกๆ 12 ชั่วโมง มาปั่นรวมกับน้ำกลั่นปริมาตร 600 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ที่ความเร็วรอบสูงสุด เป็นเวลา 1.5 นาที จากนั้นนำมาพาสเจอร์ไรส์ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง ได้แก่

- วัดปริมาณโปรตีนละลายน้ำด้วยวิธีของ Lowry และคณะ (1951)
- วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธีของ Somogyi's Nelson (1944)
- วัดปริมาณกรดอะมิโนอิสระโดยใช้กราฟมาตรฐาน L- tyrosine
- ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของนม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาวิธีการแช่ถั่วเหลือง

นมถั่วเหลืองที่เตรียมจากการใช้ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ด้วยวิธีการต่างๆปริมาณ 100 กรัม มาผสมกับน้ำกลั่น 600 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่องปั่นอเนกประสงค์ที่ความเร็วรอบสูงสุด เป็นเวลา 1.5 นาที เพื่อตีปั่นให้ถั่วเหลืองแตกละเอียดผสมรวมตัวกับน้ำ จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที พบว่าลักษณะน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้แสดงในตารางที่ 8

จากผลการทดลองดังกล่าวเราได้คัดเลือกวิธีการแช่ถั่วที่ทำให้ได้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีระดับของกลิ่นแตกต่างกัน 3 วิธีการคือ

1. การแช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เนื่องจากวิธีการนี้จะให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีลักษณะนมดี มีสีขาวนวล และมีกลิ่นถั่วน้อยกว่าวิธีอื่นๆ

2. การแช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง วิธีการนี้จะให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีลักษณะคล้ายกับการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แต่มีกลิ่นของถั่วเหลืออยู่มากกว่า

3. การแช่ถั่วเหลืองในสารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที เนื่องจากวิธีการนี้จะให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีกลิ่นถั่วแรงที่สุด และที่เลือกเวลาในการแช่เป็น 20 นาที เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่แช่ถั่วได้นานที่สุดที่ให้นมถั่วเหลืองที่ไม่แยกชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ลักษณะของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่างๆ

วิธีการแช่	วันที่	pH	ความสูงของตะกอน ขวดที่ 1	ขวดที่ 2	ขวดที่ 3	ลักษณะของนมถั่วเหลือง
แช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	0	6.24	0	0	0	นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น
	1	6.43	0	0	0	
	2	5.68	0	0	0	
แช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	0	6.36	0	0	0	นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น
	1	6.62	0	0	0	
	2	6.5	0	0	0	
แช่ในสารละลายกรดแลกติก เข้มข้นร้อยละ 0.1 เป็นเวลา 12 ชั่วโมง	0	6.09	0	0	0	นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น
	1	6.24	0	0	0	
	2	6.12	0	0	0	
แช่ในสารละลายกรดแลกติก เข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง	0	4.78	1.5	1.51	1.5	นมแยกชั้น ชั้นบนเป็นของเหลวใส
	1	5.05	1.76	1.24	1.28	
	2	4.85	1.1	1.18	1.18	
แช่ในสารละลายกรดแลกติก เข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	0	5.25	2.3	2.37	2.18	นมแยกชั้น ชั้นบนเป็นของเหลวใส
	1	5.51	1.98	2.14	2.10	
	2	5.34	1.9	2.0	1.85	
แช่ในสารละลายกรดแลกติก เข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที	0	5.42	0	0	0	นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น
	1	5.63	0	0	0	
	2	5.57	0	0	0	
แช่ในสารละลายกรดแลกติก เข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 10 นาที	0	5.68	0	0	0	นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น
	1	5.49	0	0	0	
	2	5.62	0	0	0	

หมายเหตุ ข้อมูลได้จากนมถั่วเหลืองเก็บในตู้เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

2. **การหมักถั่วเหลืองโดยเชื้อ *Rhizopus oligosporus***

นำถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ด้วยวิธีในข้อ 2.1,2.2 และ 2.5 (จากขั้นตอนการดำเนินงาน) มานึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงจึงนำหัวเชื้อในรูปของแป้งมันสำปะหลัง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างถั่วเหลืองหมักจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100 กรัม ทุกๆ 12 ชั่วโมง มาปั่นรวมกับน้ำกลั่นปริมาตร 600 มิลลิลิตร ด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ที่ความเร็วรอบสูงสุดเป็นเวลา 1.5 นาที จากนั้นนำมาพาสเจอร์ไรส์ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าลักษณะน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้แสดงในตารางที่ 9

จากการทดลองพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการหมัก *R. oligosporus* โดยใช้ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และถั่วเหลืองที่แช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อนำมาหมักด้วยเชื้อ *R. oligosporus* แล้วนำมาแปรรูปเป็นนม จะได้นมที่มีลักษณะดังนี้

นมที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จะได้นมที่มีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น และมีกลิ่นถั่ว นมที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นมมีสีขาวนวล ไม่แยกชั้น เริ่มมีกลิ่นของเชื้อรา

นมที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองเป็นเวลา 36 และ 48 ชั่วโมง เริ่มมีลักษณะใส และมีกลิ่นเชื้อรามากขึ้น

นมที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองเป็นเวลา 60 และ 72 ชั่วโมง มีลักษณะใส มีสีคล้ำและมีกลิ่นเชื้อราชัดเจน

ส่วนถั่วเหลืองที่แช่ในสารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที เมื่อนำมาหมักด้วยเชื้อรา แล้วนำมาขึ้นรูปเป็นนม จะได้นมที่มีลักษณะคล้ายกับสองสภาวะข้างต้น แต่มีการแยกชั้นของนมถั่วเหลืองที่ใช้ถั่วเหลืองหมักเป็นเวลา 36 ชั่วโมงขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 ลักษณะของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองด้วยวิธีการต่าง ๆ แล้วนำมาหมัก ด้วยเชื้อ *R. oligosporus*

วิธีการเตรียมถั่วเหลือง	เวลาที่หมักด้วยเชื้อรา (ชม.)	ลักษณะทางกายภาพของนมถั่วเหลือง
แช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง	0	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	12	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	24	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นเชื้อรา
	36	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	48	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	60	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	72	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
แช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	0	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	12	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	24	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นเชื้อรา
	36	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	48	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	60	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	72	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ ไม่แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
แช่ถั่วเหลืองในสารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง	0	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	12	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นถั่ว
	24	นมสีขาวนวล ไม่แยกชั้น มีลักษณะนมดี มีกลิ่นเชื้อรา
	36	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	48	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	60	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น
	72	นมถั่วเหลืองมีลักษณะใส แต่มีสีคล้ำ แยกชั้น มีกลิ่นเชื้อราชัดขึ้น

การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำนมถั่วเหลือง ได้แก่ ปริมาณโปรตีนละลายน้ำ ปริมาณ tyrosine และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ผลการวิเคราะห์แสดงในภาพที่ 5 และ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนละลายน้ำ (——) และปริมาณ tyrosine (-----) ในน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการหมัก *R. oligosporus* ที่เวลาต่างๆ บนถั่วเหลือง

สัญลักษณ์

□ , ■ แช่น้ำกลั่น 12 ชั่วโมง ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

△ , ▲ แช่น้ำกลั่น 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

○ , ● แช่สารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 20 นาที ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการหมัก *R. oligosporus* ที่เวลาต่างๆ บนถั่วเหลือง

สัญลักษณ์ ■ แช่น้ำกลั่น 12 ชั่วโมง ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

▲ แช่น้ำกลั่น 60 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

● แช่สารละลายกรดแลกติกร้อยละ 0.5 นาน 20 นาที ก่อนการหมักด้วยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวัดโปรตีนละลายน้ำ tyrosine และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการหมัก *R. oligosporus* บนถั่วเหลืองที่แช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง และถั่วเหลืองที่แช่ในน้ำกลั่นอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ที่เวลาต่างๆ พบว่ามีปริมาณมากกว่านมถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่ถั่วเหลืองในสารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 เป็นเวลา 20 นาที

นมถั่วเหลืองจะมีปริมาณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณโปรตีนละลายน้ำและปริมาณ tyrosine เพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักถั่วเหลืองนานขึ้น

การทดลองของพนารัตน์และคณะ (2536) ซึ่งมีการใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* ในการหมักถั่วเหลืองก่อนนำมาแปรรูปเป็นนม พบว่านมถั่วเหลืองที่ได้จะมีปริมาณโปรตีนละลายน้ำเพิ่มมากขึ้น เมื่อเทียบกับนมถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งน่าจะเป็นผลเนื่องมาจากเชื้อที่ใช้มีการย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองให้อยู่ในรูปที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายขึ้น ผลที่เกิดขึ้นนี้มีความสอดคล้องกับผลที่ได้จากการทดลองในโครงงานพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

<u>สรุปผลการทดลอง</u>

จากการทดลองเป็นการปรับปรุงคุณภาพของนมถั่วเหลือง โดยขั้นแรกเป็นการหาวิธีการแช่ถั่ววิธีการต่าง ๆ ซึ่งถั่วเหลืองที่ได้จากการแช่เมื่อนำมาแปรรูปเป็นนมแล้วมีลักษณะของนมที่ดีและมีระดับกลิ่นถั่วแตกต่างกัน จากการทดลองพบว่า

1. การแช่ถั่วในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วนำมาแปรรูปให้เป็นนมถั่วเหลืองตามกรรมวิธี พบว่าได้นมถั่วเหลืองที่มีลักษณะนมดี มีสีขาวนวล และมีกลิ่นถั่วน้อยกว่าวิธีอื่น

2. การแช่ถั่วเหลืองในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วนำมาแปรรูปให้เป็นนมถั่วเหลืองตามกรรมวิธี จะให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีลักษณะคล้ายกับการแช่ในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แต่มีกลิ่นของถั่วเหลืออยู่มากกว่า

3. การแช่ถั่วเหลืองในสารละลายกรดแลกติกเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ใช้เวลาในการแช่ 30 นาที 4 และ 6 ชั่วโมง เมื่อนำมาแปรรูปเป็นนมถั่วเหลือง พบว่านมถั่วเหลืองมีการตกตะกอนแยกชั้นภายหลังการพาสเจอไรส์ จึงใช้เวลาในการแช่ถั่วเหลือง 20 นาที เนื่องจากเป็นช่วงเวลาที่แช่ถั่วได้นานที่สุดที่ให้นมถั่วเหลืองที่ไม่แยกชั้น

คุณภาพของนมถั่วเหลืองที่ได้หลังจากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา สรุปได้ดังนี้

1. จากการวิเคราะห์พบว่านมถั่วเหลืองจะมีปริมาณโปรตีนละลายน้ำ และปริมาณ tyrosine เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก แสดงว่าเชื้อ *R. oligosporus* สามารถย่อยโปรตีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายยาวให้กลายเป็นสายสั้น ๆ หรือเป็นกรดอะมิโนอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นน้ำนมถั่วเหลืองจึงอยู่ในสภาพเหมาะสมต่อการบริโภคมากขึ้น

2. นมถั่วเหลืองจะมีปริมาณรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก แสดงว่าเชื้อ *R. oligosporus* สามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็กลง ทำให้ร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้ง่ายขึ้นและลดปัญหาอาการท้องอืดจากการดื่มนมถั่วเหลืองได้

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

นมถั่วเหลืองที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราถึงแม้จะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก แต่เมื่อใช้เวลาในการหมักนานถึงระยะหนึ่งลักษณะของนมที่ได้จะไม่เป็นที่ยอมรับเพราะมีกลิ่นของเชื้อ *Rhizopus oligosporus* ในระดับสูง น้ำนมมีลักษณะใสและมีสีคล้ำ มีวิธีการแก้ไขดังนี้

1. เพิ่มปริมาณแป้งที่ใช้เป็นหัวเชื้อ เพื่อเพิ่มอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนต่อไนโตรเจนให้แก่เชื้อรา เนื่องจากถ้าอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนน้อย เชื้อจะย่อยสลายกรดอะมิโนในถั่วเหลืองเพื่อนำคาร์บอนมาใช้ และปล่อยไนโตรเจนออกมาในรูปของแอมโมเนีย จึงเกิดกลิ่นขึ้น

2. ลดปริมาณเชื้อเริ่มต้นและลดอุณหภูมิในการหมัก เพื่อให้เชื้อมีการเจริญเป็นไปอย่างช้าๆ และเก็บตัวอย่างในช่วง 0 – 24 ชั่วโมง เนื่องจากมีกลิ่นที่เกิดการหมักของเชื้อราในระดับต่ำ

3. นำนมถั่วเหลืองที่ได้ผลิตเป็นนมเปรี้ยว หรือโยเกิร์ต เพื่อลดกลิ่นและลักษณะของนมถั่วเหลืองที่ไม่ต้องการให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น

4. ในการทดลองใช้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในถั่วเหลืองก่อนที่จะหมักด้วยเชื้อรา อาจมีผลทำให้เกิดกลิ่นถั่วในนมมากขึ้น และทำให้โปรตีนเสียสภาพ จึงควรใช้เวลาในการฆ่าเชื้อ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นุชรี บูรณะชัชวาลย์, ประพัฒน์ แก้วกลม และ สุวรรณา เชาวะวณิชย์. การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพของโยเกิร์ตจากนมถั่วเหลืองและการเก็บรักษา. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2536

พนารัตน์ อรุณรัตียากร และ ธนิตา รุ่งสรรเสริญ. การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 จากถั่วเหลือง. โครงงานพิเศษ วิทยาศาสตรบัณฑิต กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2538

เรณู ปิ่นทอง การพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากนมถั่วเหลือง ว. อาหาร 12 (3) 2523 : 230-245

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม หน้า 168- 188, สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์ , กรุงเทพฯ , 2532

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย หน้า 3-27 , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ , 2527

สมชาย ประภาวัต นมเทียมจากพืช หน้า 10-16 , มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ , กรุงเทพฯ , 2527

Ariyama, H. "Process for Manufacture of synthetic yoghurt from soybean". U.S. Patent. 3, 096, 177 July. 2, 1963.

Buono , M.A. , Sester , c. , Erickson , L.E. and Fung , D.Y.C. 1990 ."Soymilk based yogurt : sensory evaluation and chemical measurement." J. Food Sci . 55(2) : 528-531.

Kanda, H., H. L. Wang C. W. Hesseltine and K. Warner.1967. "Yoghurt Production by Lactobacillus Fermentation of Soybean Milk". Process Chemistry. May, 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lee, S.Y. , Thompson , L.D. and Brittin , H.C. 1990. "Comparison of milk- based and soymilk- based yogurt." J. Food Sci. 55(2) : 532-538

Lowry, O.H., N.J. Rosebrough , A.L. Farr and R.J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275

Mital, B.K. and Steinkraus. 1976. Flavour acceptability of unfermented and lactic fermented soymilks. J. Milk Food Technology. 39 : 342-344.

Nakai, S. and E. Li-Chan. Protein Quality and The Effects of Processing. New York : Marcel Deaker , 1989

Nelson , N. 1944 A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. J. Biol. Chem. 153:375-380

Salunkhe , D. K. , and S. S. Kadam. CRC Handbook of World Food Legumes, Nutritional Chumistry, Processing Technology and Utilization. Vol 3. Boca Raton : CRC Press, 1987

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์นมถั่วเหลือง

นำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าต่างๆดังนี้

1. ปริมาณโปรตีนละลายน้ำ วิเคราะห์โปรตีนละลายน้ำด้วยวิธี Lowry method

สารเคมีที่ใช้

1. Na_2CO_3 2 เปอร์เซ็นต์ ใน NaOH เข้มข้น 0.1 นอร์มัล 100 มิลลิลิตร
2. Sidium potassium tartrate 2.7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) 1 มิลลิลิตร
3. $CuSO_4.5H_2O$ 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) 1 มิลลิลิตร
4. Alkaline copper solution ประกอบด้วย สารข้อ 1. จำนวน 100 มิลลิลิตร และสารข้อ 2. และ 3. อย่างละ 1 มิลลิลิตร
5. 1 N Folin-Ciocalteau reagent ผสมกับน้ำกลั่น 1:1 ก่อนใช้
6. สารละลายโปรตีนมาตรฐาน bovine serum albumin

วิธีการวิเคราะห์

- ดูดส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่แห้งและสะอาด
- เติม Alkaline ข้อ 4. จำนวน 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 10 นาที
- เติม Folin-Ciocalteau reagent 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็วตั้งทิ้ง ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
- วัด OD. ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
- ค่าที่ได้นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน bovine serum albumin (ภาพที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ

- ดูดส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดที่แห้งและสะอาด
- นำไปวัด OD. ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
- ค่าที่ได้นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดอะมิโน L-tyrosine (ภาพที่ 8)

3. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์น้ำตาลละลายน้ำด้วยวิธี Somogy Nelson

สารเคมีที่ใช้

1. Copper reagent เตรียมโดยละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ 71 กรัม และ Na.K.tartate 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติม NaOH เข้มข้น 1 นอร์มัล จำนวน 100 มิลลิลิตร $CuSO_4.5H_2O$ เข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 80 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าโดยให้ความร้อน เติม $NaSO_4$ 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำกลั่นโดยให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีน้ำตาล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนนำไปใช้

2. Nelson reagent เตรียมโดยละลาย $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 50 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร เติม conc.H_2SO_4 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม $Na_2AsO_4.7H_2O$ 6 กรัม ซึ่งละลายในน้ำกลั่น แล้วนำทั้งหมดมาผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีน้ำตาลที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้ามีตะกอนให้กรองก่อนนำไปใช้

3. สารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

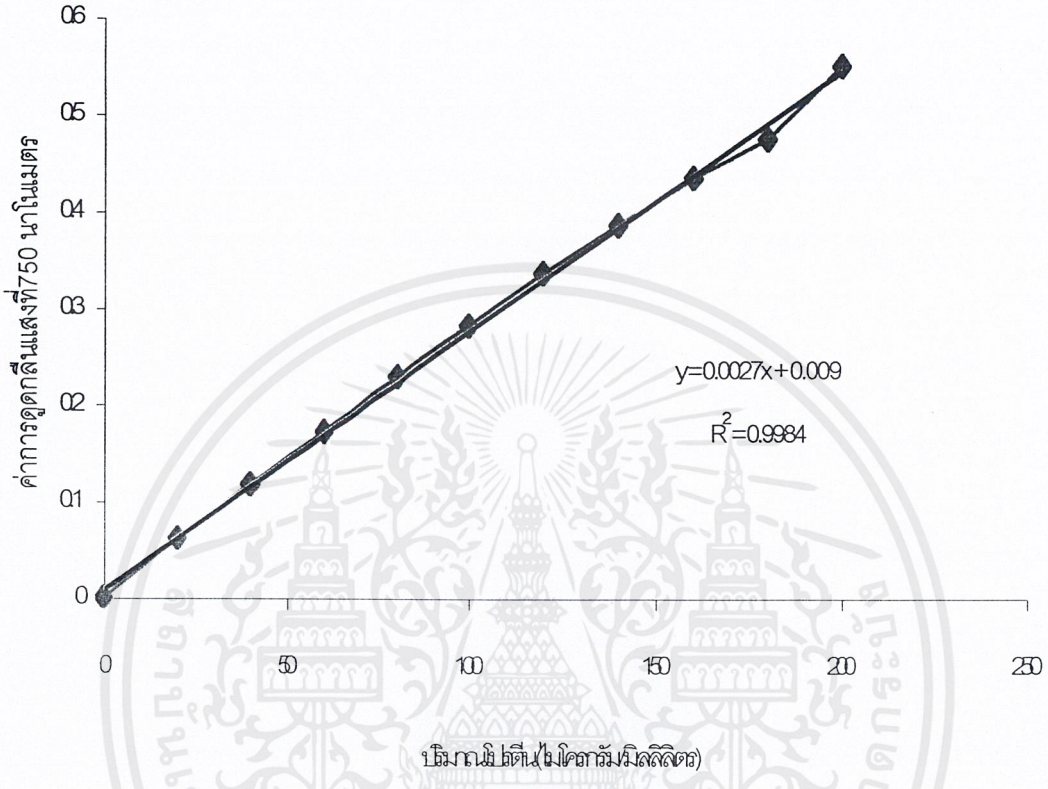
วิธีการวิเคราะห์

- ดูดส่วนใสจำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่แห้งและสะอาด
- เติม Copper reagent 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นจัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

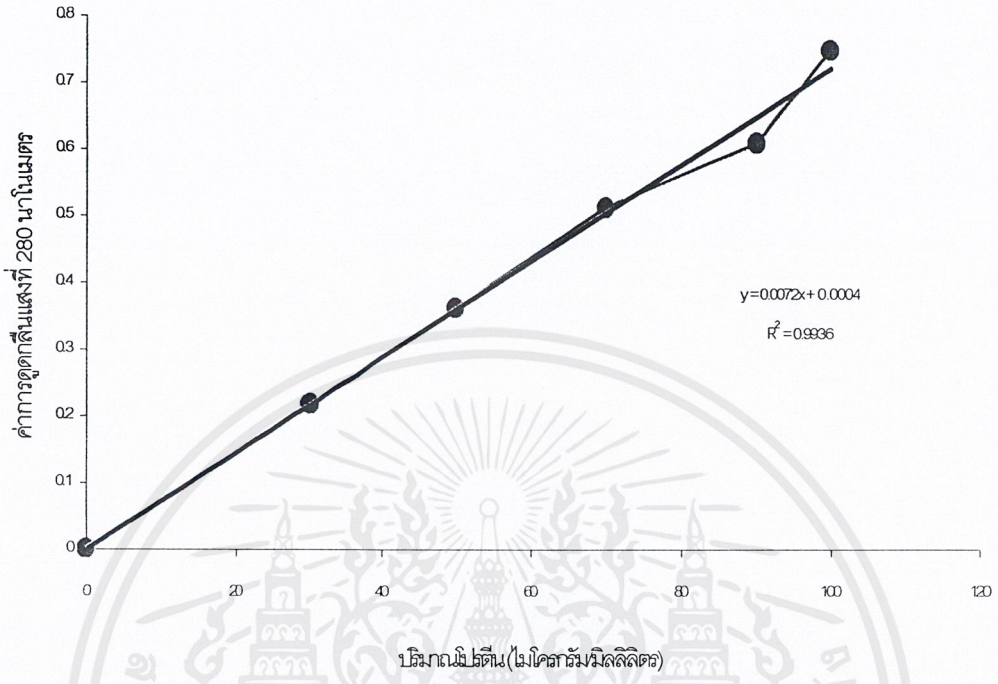
- เติม Nelson reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที
- เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
- นำไปวัดค่า OD. ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
- ค่าที่ได้นำไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน glucose (ภาพที่ 9)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



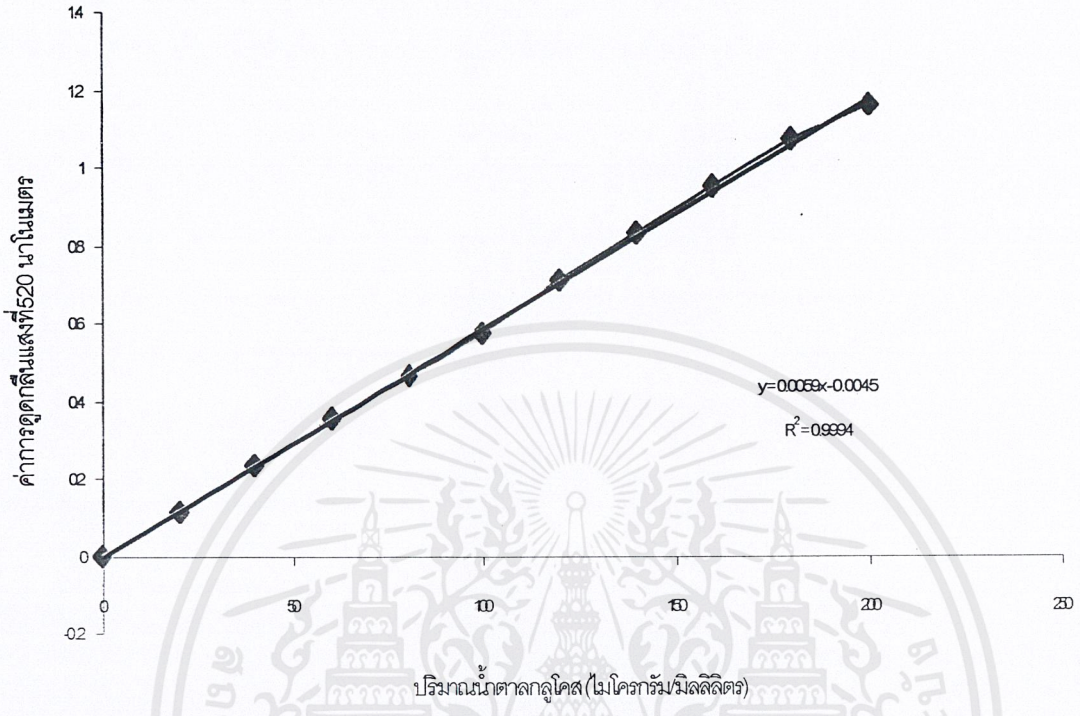
ภาพที่ 7 กราฟมาตรฐาน bovine serum albumin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 กราฟมาตรฐานกรดอะมิโน L-tyrosine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 กราฟมาตรฐานกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการนับจำนวนสปอร์

การนับจำนวนสปอร์ใช้วิธี direct count ตามวิธีของ Townsend และ Lindgren (1953) ซึ่งมีวิธีการดังนี้ คือ

1. วาง cover glass ของ haemacytometer ให้อยู่กึ่งกลางสไลด์ ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสมแตะที่ขอบ cover glass ให้ตัวอย่างไหลเข้าไประหว่าง cover glass และสไลด์จนเต็มพอดี

2. นับจำนวนสปอร์ โดยใช้กำลังขยาย 400 โดยนับเป็นสปอร์ที่อยู่ในตาราง และสปอร์ที่คาบเส้นทางด้านล่าง และทางด้านขวา จำนวนสปอร์ที่นับควรอยู่ในช่วง 10-30 สปอร์ใน 1 ช่อง การนับทำตามมุมทะแยงซ้าย และขวารวม 10 ช่อง และนับ 2 ซ้ำ

3. การคำนวนปริมาณสปอร์ต่อมิลลิลิตร

Haemacytometer มีระยะห่างระหว่าง chamber ถึง cover glass เท่ากับ 0.1 มิลลิเมตร และมีความกว้าง ยาว ในแต่ละช่วงเท่ากัน คือ 0.2 มิลลิเมตร ดังนั้นในแต่ละช่วงจะมีปริมาตรเท่ากับ $4x10^{-3}$ ลูกบาศก์มิลลิเมตร

จำนวนสปอร์หรือโปรโตพลาสต่อ 1 ลูกบาศก์มิลลิเมตร

$$= Y \times 1/4 \times 10^{6} \times \text{ระดับความเจือจาง}$$

Y = จำนวนสปอร์หรือโปรโตพลาสที่นับได้เฉลี่ยใน 1 ช่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้