การผลิตผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138

Production of Porridge from fermented okara by *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138

จิตตกาญจน์ น้อยสถิตย์

ธิญาดา พีรวณิชกุล

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การผลิตผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TSTR 3138

Production of Porridge from fermented okara by *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138

จัดทำโดย

จิตตกาญจน์ น้อยสถิตย์ รหัสนักศึกษา 62080086

ธิญาดา พีรวณิชกุล รหัสนักศึกษา 62080101

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

วิรามศรี ..... 14 / มิ.ย / 66

(ผศ.ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ การผลิตผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138

ชื่อนักศึกษา จิตตกาญจน์ น้อยสถิตย์ รหัสนักศึกษา 62080086

ธิญาดา พีรวณิชกุล รหัสนักศึกษา 62080101

หลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร

พ.ศ. 2566

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ

บทคัดย่อ

โอการะ (Okara) หรือ กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตนมถั่วเหลือง เพื่อเพิ่มมูลค่ากากถั่วเหลืองนี้ควรนำมาพัฒนาเป็นอาหารฟังชันก์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วเหลืองที่หมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อนำมาใช้เพิ่มคุณสมบัติการเป็นอาหารฟังก์ชันในผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป ผลที่ได้พบว่า กากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักโดยเชื้อรามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 331.48 mg GAE/g extract และร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) เท่ากับร้อยละ 46.27±3.14 ซึ่งมากกว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก คือ 2.68 mg GAE/g extract และ 2.95±0.16 ตามลำดับ และเมื่อนำกากถั่วเหลืองหมักมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปด้วยวิธีการทำแห้งแบบโฟมแมท (Foam-mat Drying) ที่ 4 สภาวะการทดลอง ได้แก่ 1) โจ๊กข้าวหอมมะลิหักปลาย 2) โจ๊กกากถั่วเหลืองหมัก 3) โจ๊กข้าวหักปลายผสมกากถั่วเหลืองหมัก 75% (w/w) และ 4) โจ๊กข้าวหักปลายผสมกากถั่วเหลืองหมัก 50%(w/w) พบว่า โจ๊กกากถั่วเหลืองหมักมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 458.68 mg GAE/g extract และร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ เท่ากับร้อยละ 66.82±1.33 ในขณะที่โจ๊กข้าวหอมมะลิหักปลาย มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยที่สุด เท่ากับ 15.44 mg GAE/g extract และร้อยละ 11.2±3.72 ตามลำดับ

คำสำคัญ: กากถั่วเหลือง โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป *Rhizopus oligosporus*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title Production of Porridge from fermented okara by *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138

Student name Chittakan Noisathit Student ID 62080086

Thiyada Peerawanichagul Student ID 62080101

Program Bachelor of Science in Food Science and Technology

Year 2023

Advisor Assist.Prof.Dr. Wiramsri Sripochanart

Abstract

Okara or soybean pulp is a by-product from soy milk production process. For value-adding, It should be developed as functional food. The purpose of this research was to study the changes in total phenolic compounds and antioxidant activity of fermented okara by *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138 at 72 hours. Fermented okara was used for increasing the functional properties in porridge products. The results were found that fermented okara by *R. oligosporus* TISTR 3138 had the total phenolic compounds of 331.48 mg GAE/g extract and antioxidant activity against 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) was 46.27±3.14%, which were higher than unfermented okara which were 2.68 mg GAE/g extract and 2.95±0. 16, respectively. The fermented okara was processed into porridge products by foam-mat drying method. The experiments consisted of 4 conditions including 1) rice porridge, 2) fermented okara porridge, 3) porridge from rice mixed with fermented okara 75%(w/w) and 4) porridge from rice mixed with fermented okara 50%(w/w). The result found that the porridge from fermented okara had the highest total phenolic content at the level of 458.68 mg GAE/g extract and antioxidant activity was obtained at 66.82±1.33%. Whereas rice porridge had the lowest total phenolic content and antioxidant activity at the level of 15.44 mg GAE/g extract and 11.2±3.72%, respectively.

Keywods: Okara, Porridge, *Rhizopus oligosporus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการการจัดทำปัญหาพิเศษเล่มนี้นี้สำเร็จลุล่วงมาได้ด้วยความกรุณาจาก ดร. วิรามศรี ศรีพจนารถ ที่ได้ให้เกียรติเป็นที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ที่ให้ความรู้ต่างๆ ช่วยเหลือ แนะนำ ให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆด้วยความเอาใจใส่ทำให้ผ่านลุล่วงไปได้อย่างสมบูรณ์ ผู้ศึกษาจึงขอกราบขอบคุณในความกรุณาเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณพี่ๆเจ้าหน้าที่นักวิทยาศาสตร์ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการเบิก เครื่องมือ อุปกรณ์ต่างๆตลอดการทำงานวิจัยนี้ ขอขอบคุณนางสาวธนัณฌา สุมาลัย พี่บัณฑิตปริญญาโท ที่คอยดูแลช่วยเหลือ ถ่ายทอดให้ความรู้ในด้านต่างๆทำให้การทำวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณคุณพ่อคุณแม่และครอบครัว รวมถึงเพื่อนๆที่คอยเป็นกำลังใจ ให้การสนับสนุนตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา ขอขอบคุณศิลปินที่รักทุกท่านที่คอยสร้างผลงานออกมาเป็นแรงใจให้ในวันที่เหนื่อยล้าและสุดท้ายนี้ ขอบคุณตนเองที่อดทน พยายามทำปัญหาพิเศษเล่มนี้จนสำเร็จ คณะผู้จัดหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์และให้ความรู้เพิ่มเติมหรือสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดงานวิจัยต่อไปให้แก่ผู้ที่เข้ามาอ่านได้ไม่มากก็น้อยและหากมีเนื้อหาหรือบทความที่ผิดพลาดประการใดทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้

จิตตกาญจน์ น้อยสถิยต์

ธิญาดา พีรวณิชกุล

14 มิถุนายน 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ I

Abstract II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VII

สารบัญภาพ VIII

บทที่ 1 บทนำ 10

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 10

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา 11

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 12

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 13

2.1 กากถั่วเหลือง (Okara) 13

2.2 การหมักกากถั่วเหลือง 13

2.2.1 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา 13

2.2.2 การหมักด้วยแบคทีเรีย 14

2.2.3 การหมักด้วยยีสต์ 14

2.3 Rhizopus oligosporus 15

2.3.1 คุณสมบัติทั่วไปของเชื้อรา Rhizopus oligosporus 15

2.3.2 การนำ Rhizopus oligosporus มาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม 16

2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) ในกากถั่วเหลือง 16

2.4.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) 16

2.4.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) 18

2.4.2.1 ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.3 ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogen) 21
2.5 โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป 22
2.5.1 ลักษณะของโจ๊กที่ต้องการมีดังนี้ 22
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน 23
3.1วัตถุดิบและสารเคมี 23
3.1.1 วัตถุดิบ 23
3.1.2 สารเคมี 23
3.2 อุปกรณ์ 24
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง 25
3.3.1 การหมักกากถั่วเหลือง 25
3.3.2 วิธีการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* TSTR 3138 25
3.3.3 วิธีการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) 25
3.3.4 การแปรรูปโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปด้วยวิธีโฟมแมท (Foam-mat drying) 25
3.3.5 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง 26
3.3.5.1 การสกัดตัวอย่าง 26
3.3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) 27
3.3.5.3 การวิเคราะห์กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical-scavenging 27
3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังการแปรรูป 27
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 29
4.1 ผลการศึกการเจริญของเชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 ระหว่างการหมักกากถั่วเหลือง 29
4.2 ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ในระหว่างการหมัก 30
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 31
4.4 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging 32
4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังแปรรูป 33
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.1 สรุปผล 34

5.2 ข้อเสนอแนะ 34

บรรณานุกรม 35

ภาคผนวก 41

ภาคผนวก ก ภาพประกอบการหมักกากถั่วเหลืองหมักแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป 42

ภาคผนวก ข การเตรียมกราฟมาตราฐาน 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 อัตราส่วนน้ำต่อข้าวปลายหักหอมมะลิและกากถั่วเหลืองหมักในการแปรรูปโจ๊ก.....26

3.2 อัตราส่วนตัวอย่างต่อปริมาตร 80% เมทานอลในการสกัด.....27

4.1 ค่าร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างที่ความเข้มข้น.....32
100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตารางผนวกที่

ข.1 การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ%Scavenging activity.....49
ของสารละลาย มาตรฐาน Trolox

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 ลักษณะของเชื้อรา *Rhizopus oligosporus*.....15

2.2 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก.....18

2.3 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์.....19

2.4 โครงสร้างพื้นฐานของไอโซฟลาโวน.....21

4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 ระหว่างการหมัก.....29

4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการหมัก.....30

4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใน 6 ตัวอย่าง.....31

4.4 ความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (IC_{50}).....33

ภาพภาคผนวกที่ หน้า

ก.1 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา Rhizopus oilgosporus TISTR 3138 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....42

ก.2 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา Rhizopus oilgosporus TISTR 3138 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง.....42

ก.3 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา Rhizopus oilgosporus TISTR 3138 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....43

ก.4 การเตรียมกากถั่วเหลืองหมักเพื่อทำโจ๊ก.....43

ก.5 การต้มข้าวให้สุกก่อนผสมกากถั่วเหลืองหมักลงไปตามอัตราส่วนที่เตรียมไว้.....44

ก.6 การคนให้ข้าวและกากถั่วเหลืองหมักเป็นเนื้อเดียวกัน.....44

ก.7 ต้มโจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมักจนกากถั่วเหลืองหมักเหลว.....45

ก.8 ปั่นโจ๊กรวมกับสารละลาย CMC ปั่นด้วยเครื่องปั่น เป็นเวลา 1 นาที.....45

(ก) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

ก.9 เกลี่ยโจ๊กบนถาดที่รองด้วยกระดาษไขอบด้วยตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 ชั่วโมง.....46

(ก) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.10 โจ๊กหลังจากทำการอบด้วยตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง.....46

(ก) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

ก.11 โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปหลังแปรรูปเสร็จ.....47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กากถั่วเหลือง หรือ โอการะ (Okara) คือผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตน้ำนมถั่งเหลือง และจากกระบวนการผลิตเต้าหู้ กากถั่วเหลืองที่เหลือจากกระบวนการผลิตนี้หากไม่ถูกทิ้งเป็นของเสีย นำไปทำปุ๋ย ก็มักจะถูกนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์ (Li , 2012) เนื่องจากยังคงมีโปรตีนอยู่ 15–33% (O'Toole, 1999; Vong และคณะ, 2016) และสารอาหารอื่นๆที่มีคุณค่าจึงนิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ แต่เพื่อให้เกิดมูลค่าสูงสุด กากถั่วเหลืองจึงควรถูกนำมาบริโภคหรือประกอบเป็นอาหารของมนุษย์ (วนิดา, 2561) แต่การนำกากถั่วเหลืองสดที่ได้จากกระบวนการผลิตมาประกอบอาหารทันทีจะให้ความรู้สึกเหมือนรับประทานกากเส้นใย มีกลิ่นไม่พึ่งประสงค์ อีกทั้งร่างกายยังย่อยได้ไม่สมบูรณ์ (Mateos และคณะ, 2010) เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ 40-50% (Vander และคณะ, 1989) มีรายงานว่ามีหลายวิธีในการนำกากถั่วเหลืองมาใช้สำหรับการบริโภคของมนุษย์ เช่น การเพิ่มความสามารถในการย่อยได้โดยใช้เอนไซม์ย่อยเซลลูโลสและเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Kasaic และคณะ, 2004) รวมถึงกระบวนการหมักแบบแห้ง (Solid-state fermentation) คือการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บนสารตั้งต้นที่เป็นของแข็ง (Substrates) ที่สามารถดูดซับน้ำและไม่มีน้ำไหลอย่างอิสระ อาจจะมีสารอาหารที่ละลายน้ำหรือไม่ละลายน้ำก็ได้ หรืออาจย่อยสลายทางชีวภาพหรือไม่ก็ได้ เช่น แป้งและเซลลูโลส องค์ประกอบหลักของผนังเซลล์กากถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนและโพลีแซคคาร์ไรด์ (Polysaccharide) จำพวกกากใยที่ไม่ละลายน้ำเป็นส่วนใหญ่ (Insoluble dietary fiber) ซึ่งเชื่อมอยู่กับสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic acid) ด้วยพันธะเอไมด์ (Amind bond) และพันธะเอสเทอร์ (Ester bond) ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มของสารประเภทฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นหนึ่งในสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณค่ามากที่สุดในกากถั่วเหลือง แต่ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของไกลโคซิดิก ไอโซฟลาโวน (Glycosidic isoflavones) ได้แก่ Daidzin Genistin และ Glycitin ซึ่งมีลักษณะเป็นสารประกอบเชิงซ้อนจับอยู่กับกลุ่มโพลีแซคคาร์ไรด์ทำให้การออกฤทธิ์ทางชีวภาพทำได้น้อย (Vong และคณะ, 2016) กระบวนการหมักจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยปรับปรุงพัฒนาคุณสมบัติและเพิ่มมูลค่าให้กับกากถั่วเหลือง เช่น การปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลและการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอื่น ๆ (Hur และคณะ, 2014) การเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระ การลดลงของไขมัน ลิกนิน และกรดไฟติก หลังการหมักตามรายงายของ Zhu และคณะ (2008) และรายงานของ O'Toole (1999) โดยเชื้อราที่นำมาใช้ในการหมักคือ เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TSTR 3138 เป็นเชื้อราที่ใช้เริ่มต้นในการผลิตเทมเป้ เนื่องจากปัจจัยหลายประการ เช่น เป็นเชื้อราที่สามารถเจริญได้อย่างมีประสิทธิภาพที่อุณหภูมิสูง 30-40 องศาเซลเซียส เป็นเชื้อที่ไม่ผลิตสารพิษหรือสารที่อาจเป็นอันตรายต่อมนุษย์อีกทั้ง *R. oligosporus*

TSTR3138 สามารถผลิต Extracellular enzyme ได้หลายประเภท เช่น โปรตีเอส (Proteases) ไลเปส (Lipases) ฟอสฟาเตส (Phosphatase) (Varzakas, 1998) โดยเฉพาะเอนไซม์ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรสที่เชื้อรา *R. oligosporus* สามารถผลิตออกมาได้อย่างหลากหลาย ประกอบด้วย เพกติเนส (Pectinase) เซลลูเลส (Cellulase) เฮมิเซลลูเลส (Hemicellulase) พอลิกาแล็กทูโรเนส (Polygalacturonase) เอนโดเซลลูเลส (Endocellulase) และ ไซลาเนส (Xylanase) (Nout และKiers, 2005; Varzakas, 1998) รวมถึงเอนไซม์กลูโคซิเดส (Glucosidases) เบต้า-กลูคูโรนิเดส (β-glucuronidase) (McCue และShetty, 2003; Zinjarde, 2014) โดยเอนไซม์ที่กล่าวมาเหล่านี้จะย่อยผนังเซลล์ของกากถั่วเหลือง ปลดปล่อยเปปไทด์ (Peptides) กรดอะมิโนอิสระ (Free amino acids) และโพลีแซ็คคาไรด์ถูกปลดปล่อยออกมาเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharides) หรือ เส้นใยที่ละลายน้ำ (Soluble dietary fiber) ไดแซ็คคาไรด์ (Disaccharides) โมโนแซ็คคาไรด์ (Monosaccharides) และปลดปล่อยไกลโคซิดิกไอโซฟลาโวนให้อยู่ในรูปอิสระ ที่เรียกว่า อไกลโคนไอโซฟลาโวน (Aglycones isoflavones) ประกอบไปด้วย Daidzein Genistein และ Glycitein (Nout และ Kiers, 2005) ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในรูป Glycoside ดังนั้น จึงส่งผลให้กากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นกว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก

คณะผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำกากถั่วเหลืองมาหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* TSTR 3138 และศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของการถั่วเหลืองหมัก เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการเป็นอาหารฟังก์ชัน (Functional food) ในผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าและลดปริมาณการทิ้งกากถั่วเหลืองอย่างสูญเปล่า

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* TSTR 3138

2. ศึกษากากนำกากถั่วเหลืองหมักมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

3. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในกากถั่วเหลืองหมักและผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

4. ศึกษากิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วเหลืองหมักและผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่กากถั่วเหลืองที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำนมถั่วเหลืองได้

2. สามารถนำกากถั่วเหลืองที่เหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมผลิตน้ำนมถั่วเหลืองมาพัฒนาเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่เพิ่มขึ้นได้ (Functional foods)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กากถั่วเหลือง (Okara)

กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากการผลิตนมถั่วเหลืองหรือเต้าหู้และมักจะนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ใช้ทำปุ๋ยหรือนำไปทิ้งโดยตรงเป็นของเสีย (Li และคณะ, 2012) การผลิตกากถั่วเหลืองที่มีในปริมาณมากต่อปีนั้นจะทำให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม (D'Toole, 1999) โดยกากถั่วเหลืองเหล่านั้นยังอุดมไปด้วยสารอาหารทั้งโปรตีนและกรดอะมิโน (Rashad และคณะ, 2011) และยังมีรายงานมากมายที่ศึกษาเกี่ยวกับกากถั่วเหลืองเพื่อการนำบริโภคเป็นอาหารของมนุษย์ เช่น การปรับปรุงกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์เซลลูโลสและโปรตีเอส (Kasai และคณะ, 2004) การย่อยโปรตีน (Chan และคณะ, 1999) หรือการ ปล่อยสารฟีนอลิกออกมาเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการผ่านกระบวนการหมัก (Hur และคณะ, 2014) และมีการรายงานว่าการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ส่งผลต่อการเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในของพืชในระหว่างการหมัก โดยสารประกอบฟีนอลิกจะถูกปล่อยออกมาจากการไฮโดรไลซ์ (Hur และคณะ, 2014) เนื่องจากการกากถั่วเหลืองนั้นมีทั้งโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อนภายในโครงสร้างการถูกไฮโดรไลซ์ จะปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกและเปปไทด์ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กออกมาซึ่งจะนำไปสู่การเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ(Chang และคณะ, 2009)

2.2 การหมักกากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองประกอบไปด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและสารอาหารอื่น ๆ แต่มีข้อจำกัดเรื่องความชื้นและสารต้านโภชนาการ จึงจำเป็นต้องผ่านกระบวนการปรับสภาพให้กากถั่วเหลืองให้มีคุณสมบัติที่ดีขึ้น การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อจุลินทรีย์เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่สามารถช่วยลดปริมาณเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำและเพิ่มปริมาณเส้นใยที่สามารถละลายน้ำได้ รวมทั้งโปรตีน กรดอะมิโนและสารไอโซฟลาโวน การหมักกากถั่วเหลืองสามารถลดปริมาณ Phytic acid ที่เป็นสารต้านคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร (Anti-nutrients) เพื่อเพิ่มคุณค่าทางสารอาหารและคุณสมบัติในกากถั่วเหลือง

2.2.1 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา

กากถั่วเหลืองเหมาะสำหรับการหมักด้วยเชื้อรา เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสมทางกายภาพสำหรับการยึดเกาะและสร้างเส้นใยของเชื้อรา เชื้อราสามารถสร้างเอนไซม์ได้หลายชนิด เช่น อะไมเลส (Amylase) โปรตีเอส (Protease) รวมถึงเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส (β-glucosidase) ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการย่อยสลายสารประกอบประเภทลิกโนเซลลูโลสในกากถั่วเหลืองส่งผลให้ร่างกายสามารถย่อยสามารถและดูดซึมได้ดีขึ้น

นวิญญา และดรุณี (2562) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับเรื่องการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะของกากถั่วเหลืองโดยหมักกับเชื้อรา *Aspergillus niger* โดยมีวัตถุประสงค์ของงานวิจัยคือ เพื่อนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์และเพื่อเป็นการเพิ่มประโยชน์ให้กับวัสดุเหลืองทิ้งจาอุตสาหกรรมเกษตรโดยได้ทำการเก็บผลการทดลองของการหมักแบ่งเป็น 3 วัน 5 วันและ 7 วัน ผลจากการทดลองพบว่าที่ระยะเวลาของการหมักกากถั่วเหลืองกับเชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นระยะเวลา 7 วันนั้นจะช่วยให้กากถั่วเหลืองมีปริมาณของโปรตีนเพิ่มขึ้นมากที่สุดอีกทั้งยังส่งผลให้พลังงานรวมลดลงและพบว่าการหมักกากถั่วเหลืองกับ *Aspergillus niger* ยังช่วยส่งเสริมการย่อยในกระเพาะรูเมน (Rumen) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการนำกากถั่วเหลืองมาหมักเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนะนั้น ถือเป็นการเพิ่มแนวทางของการใช้ประโยชน์และเป็นการช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับวัสดุที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมได้

2.2.2 การหมักด้วยแบคทีเรีย

การศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้แบคทีเรียส่วนใหญ่จะเน้นการศึกษาแบคทีเรียนในกลุ่ม *Bacillus* sp. เนื่องจากแบคทีเรียนในกลุ่มนี้มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสแบบภายนอกเซลล์ (Bhunia และคณะ, 2012) จากการศึกษาของ Zhu และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ α-glucosidase ที่มีอยู่ในกากถั่วเหลือง ซึ่ง α-glucosidase เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคล การยับยั้ง α-glucosidase จะทำให้น้ำตาลกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือดลดลงและลดภาวะน้ำตาลในเลือดสูง โดยคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการยับยั้ง α-glucosidase จากการศึกษาพบว่าการหมักกากถั่วเหลืองโดยแบคทีเรีย *B. subtilis* B2 มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง α-glucosidase มากกว่า 90% ที่ความเข้มข้นที่ 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านการหมัก การยับยั้งเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส (α-glucosidase) (Gerich และคณะ, 2001)

2.2.3 การหมักด้วยยีสต์

ยีสต์มีกิจกรรมทางชีวภาพที่หลายหลากทำให้เป็นตัวเลือกที่ดีในการนำมาใช้ปรับปรุงคุณสมบัติของกากถั่วเหลือง จากการศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองด้วยยีสต์มักต้องการให้กากถั่วเหลืองมีสารอาหารและกลิ่นที่ดีขึ้น จากรายงานของ Rashad และคณะ (2011) ได้ศึกษาการหมักกากถั่วเหลือด้วยยีสต์ โดยมุ่งเน้นที่การปรับปรุงคุณภาพทางโภชนาการของกากถั่วเหลือง โดยใช้ยีสต์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida albicans*, *Candida guilliermondii*, *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y 7571, *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-8281, *Pichia pinus* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าการหมักด้วยยีสต์จะเพิ่มปริมาณโปรตีนและเถ้า อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณกากใย คาร์โบไฮเดรตและไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 Rhizopus oligosporus

เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เป็นราสร้างเส้นใย สืบพันธุ์ได้ทั้งแบบอาศัยเพศและไม่อาศัยเพศ เป็นเชื้อราจำพวกไซโกไมโคตินา (Zygomycotina) มีสปอร์อยู่ภายในอับสปอร์และมีสปอร์ที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเรียกว่า ไซโกสปอร์ มีผนังเซลล์ประกอบด้วยสารไคโตซานและไคตินที่ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงกับเซลล์ (Deacon, 1997) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30-42 องศาเซลเซียส pH ประมาณ 4.0 และความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ในช่วง 40-50 เปอร์เซ็นต์ (Wang และคณะ, 1975)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะของเชื้อรา Rhizopus oligosporus

ที่มา : https://tempebumbung.wordpress.com

2.3.1 คุณสมบัติทั่วไปของเชื้อรา

1. เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* จัดเป็นเชื้อราที่อยู่ในชั้นของ Zygomycetes ซึ่งเป็นหนึ่งในไฟลัมของ Zygomycota (Yanal และคณะ, 1992)

2. เชื้อรา *R. oligosporus* จัดอยู่ในกลุ่มของ *Rhizopus microsporus* ซึ่งในกระบวนการเมตาบอไลต์ของเซลล์ผลิตได้ทั้งสารที่เป็นอันตรายและไม่เป็นอัตราย แต่เนื่องจาก *R. oligosporus* เป็นเชื้อราที่ไม่ผลิตสารที่เป็นอันตราย *Rhizopus oligosporus* จึงมักถูกมนุษย์นำไปใช้ประโยชน์ (Jenniessen และคณะ

3. สายพันธุ์ของเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* นั้นจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาดประมาณ 43 ไมโครเมตรและมีปริมาณของสปอร์ประมาณ 96-223 มิลลิเมตร / สปอร์ (Jennessen และคณะ 2008)

4. ความชื้นที่เหมาะแก่การเจริญของเชื้อราอยู่ในช่วง 13-18% (Delouche, 1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เชื้อราสามารถเจริญได้ดีที่ a_w เท่ากับ 0.80 (Beuchat, 1978)

2.3.2 การนำ *Rhizopus oligosporus* มาใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม

การใช้ *Rhizopus oligosporus* ในอุตสาหกรรมมีวัตถุประสงค์ 4 ประการ คือ 1) ย่อยสลายสารอินทรีย์ 2) ผลิตเอนไซม์ 3) ใช้หมักวัตถุดิบเพื่อให้เกิดกลิ่นและรสที่น่าบริโภค 4) ผลิตกรดอินทรีย์ ในปัจจุบันมีการนำ *Rhizopus oligosporus* ใช้หมักอาหารพื้นเมืองของประเทศอินโดนีเซียที่เรียกว่า เทมเป้ (Tempeh) เพื่อเพิ่มกลิ่น รส และคุณค่าทางโภชนาการในถั่วเหลือง

การใช้เชื้อรา *R. oligosporus* ส่วนใหญ่ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์ได้หลากหลายชนิด ได้แก่ อะไมเลส โปรติเอส ไลเปส (Steinkraus, 1996) เนื่องจาก *Rhizopus* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ซึ่งเป็นสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญ โดยเอนไซม์ที่เชื้อราสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญจะขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่ใช้ (Raimbault, 1995) ในปัจจุบัน การนำเชื้อรา *R. oligosporus* มาใช้กับกระบวนการหมัก ทางชีวภาพในอุตสาหกรรม เพื่อประโยชน์จากการสร้างสารต่างๆในระหว่างการเจริญของเชื้อ มาใช้กับกระบวนการหมักทางชีวภาพ

นอกจากนี้เชื้อรา *R. oligosporus* ยังมีความสามารถในการผลิตสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก เช่น เชื้อ *Staphylococcus aureus* (Kotiyaki และคณะ, 1992) หรือสามารถนำไปใช้ในการบำบัดของเสียหรือการบำบัดน้ำเสีย และยังสามารถผลิตเอนไซม์เพื่อนำไปใช้กันอุตสาหกรรมการหมักต่างๆได้อีกด้วย (Jennessen และคณะ, 1965)

2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) ในกากถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) ออกซาเลต (Oxalates) กรดไฟติก (Phytic acid) และ เปปไทด์ทางชีวภาพซึ่งทำหน้าที่ในรูปแบบที่แตกต่างกันในร่างกายมนุษย์

2.4.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

ถั่วเหลืองนั้นอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าและมีประโยชน์เพราะเป็นแหล่งของ โปรตีนที่มีคุณภาพประกอบไปด้วยเกลือแร่และวิตามินที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส ไทอามีน ไรโบฟลาวิน ไนอาซินและกรดโฟลิกในปริมาณที่สูงและถั่วเหลืองยังเป็นแหล่งอาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวและมีใยอาหารสูง นอกจากนี้สารในถั่วเหลืองนั้นยังจัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกนั้นสามารถพบได้ในธรรมชาติซึ่งมีมากมายหลายชนิดและสารประกอบฟีนอลิกนั้นมีสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกันไปโดยมีตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignin) ซึ่ง สารกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดที่พบในในสารประกอบฟีนอลิกนั้น คือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) โดยที่สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชนั้นมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) (Velioglu และคณะ, 1988)

การจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกนั้นจัดเป็นสารในกลุ่มของสารต้านออกซิเดชันซึ่งจะพบมากในอาหารและพบในธรรมชาติมากกว่า 8,000 ชนิด (Rice-Evans และ C.A. 1995) โดยสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นสารทุติยภูมิที่ถูกสร้างขึ้นโดยพืชมีโครงสร้างที่ประกอบกันด้วยหมู่ไฮดรอกซีที่เกาะติดอยู่กับวงแหวนเบนซีนโดยสามารถที่จะจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มต่างๆได้ ดังนี้

1.กลุ่มของกรดฟีนอลิกซึ่งกรดฟีนอลิกนั้นถูกจัดเป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกอย่างง่ายในกลุ่มของสารที่ไม่ใช่สารฟลาโวนอยด์ โดยมีรูปแบบของโครงสร้างทางเคมี อยู่ 2 รูปแบบ คือ รูปแบบอนุพันธ์ของที่มาจาก Hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และรูปแบบของอนุพันธ์ที่มาจาก Hydroxycinnamic acid ได้แก่ Caffeic, Ferulic และCoumaric acid

2.กลุ่มของสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารในกลุ่มนี้นั้นจัดเป็นสารกลุ่มใหญ่ที่สุดของสารใน กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก

3. กลุ่มของสติลบีน (Stilbenes)

4. กลุ่มของลิกนินส์และโพลีเมอร์ของลิกนินส์ ซึ่งสารในกลุ่มนี้นั้นถูกจัดเป็นสารในกลุ่ม ของสารประกอบฟีนอลิกที่สามารถพบได้มากในผักและผลไม้

สารประกอบฟีนอลิกนั้นจะไปทำหน้าที่ในการกำจัดสารอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่จะเข้าไปช่วยในเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นให้เกิดเร็วยิ่งขึ้นได้โดยที่สารประกอบฟีนอลิกนั้นจะใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระจากการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ เหล่านั้นอย่างรวดเร็วจึงทำให้เข้าไปยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุดังปฏิกิริยาด้านล่างนี้ (Hussain และคณะ, 1987; Rice-Evans และคณะ, 1996)

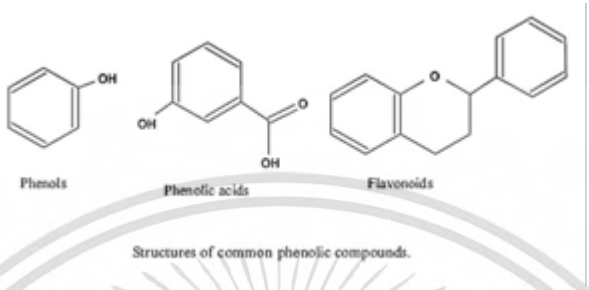
$$ROO\bullet + PPH \longrightarrow ROOH + PP\bullet$$

$$RO\bullet + PPH \longrightarrow ROH + PP\bullet$$

โดยได้กำหนดให้ ROO•□ และ RO•□ คือ อนุมูลอิสระ (Free radicals) และกำหนดให้ PPH คือสารประกอบฟีนอลิก (Polyphenolic compound)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกนั้นมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนและมีอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน และหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ประกอบกันอย่างน้อยหนึ่งหมู่โดยที่มีสารฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (Phenol) ซึ่งประกอบไปด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com

2.4.2 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ นั้นเป็นสารในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) และสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้นสามารถพบได้มากในธรรมชาติมากกว่า 4,000 ชนิด มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนแอโรมาติกมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) รวมกันอยู่ในโมเลกุล 2 วงขึ้นไปสามารถละลายได้ในน้ำและสารฟลาโวนอยด์เหล่านี้สามารถแบ่งเป็นกลุ่ม ย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐานได้เป็น 7 กลุ่ม ดังนี้

1.กลุ่มฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซิติ

2. กลุ่มฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin)

3. กลุ่มฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin)

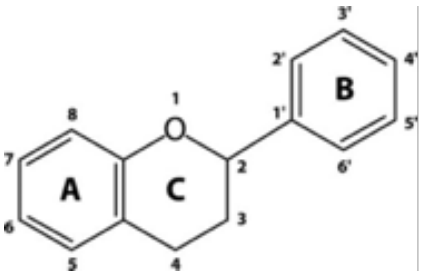
4. กลุ่มฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิชิน (catechin)

5. กลุ่มฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin)

6. กลุ่มไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein), จีนิสตีน (genistein), ไกลซิติน (glycitein)

7. กลุ่มแอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

ที่มา : Pietta, (2000)

จากภาพที่ 2.2 ฟลาโวนอยด์ จัดเป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิล-เบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีขนาดเล็กและมีโครงสร้างที่ประกอบจากการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 – C6) มาประกอบกันเป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (Benzene ring) 2 วง คือ A และ B เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (Heterocyclic pyran ring) โดยที่มีวงแหวน C อยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (Pietta, 2000)

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้นถูกจัดเป็นสารโภชนเภสัช (Nutraceutical) ซึ่งมีคุณสมบัติ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำหน้าที่เป็นหน่วงเหนี่ยวหรือเป็นสารในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงจะช่วยใน การหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระไม่ให้เกิดขึ้น โดยแหล่งอาหารที่พบสารในกลุ่มฟลาโวนนอยด์ได้ในปริมาณมาก ได้แก่ พืช ผักและผลไม้ เช่น ยอ ถั่วเหลือง กระชายดำและสารสกัดจากเมล็ดองุ่น เป็นต้น โดยงานวิจัยส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่าฟลาโวนอยด์นั้นมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง เช่น ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการเกิดมะเร็ง ช่วยในการยับยั้งการแบ่งตัวและการเพิ่มจำนวนขึ้นของเซลล์มะเร็ง (Antiproliferation) ช่วยในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammation) ช่วยในการต้านโรคเบาหวาน (Antidiabetes) อีกทั้งยังสามารถช่วยในการลดระดับของคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด ช่วยในการต้านจุลชีพ (Antimicrobial) และยังมีฤทธิ์ในการช่วยเข้าไปปรับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายได้ด้วย (Immunomodulation) เป็นต้น(Dechsupa และคณะ, 2007; Suttana และคณะ, 2010)

โดยในระบบทางเดินอาหารนั้นสารจำพวกฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อยและจะถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นหลักส่วนฟลาโวนอยด์ที่ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูกขับออกทางน้ำดีนั้น จะถูกดูดซึมเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และจะถูกย่อยสลายโดยจุลินทรีย์บางชนิดทำให้ได้กรดฟีนอลิกเกิดขึ้น ซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้าไปในกระแสเลือดอีกครั้ง ถูกส่งลำเรียงไปยังเนื้อเยื่ออวัยวะต่างๆทั่วร่างกายและถูกกำจัดออกทางไตโดยสารฟลาโวนอยด์นั้นอาจมีการผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือผ่านการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างมาแล้วซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นถูกเปลี่ยนแปลงไป (Hollman, 2004)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังพบว่าการออกฤทธิ์ต้านมะเร็งของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์นั้นอาจจะไม่ได้ส่งผลโดยตรงต่อเซลล์มะเร็งแต่อาจไปส่งผลต่อการออกฤทธิ์กับเซลล์อื่นแทนเช่นการยับยั้งการตอบสนองต่อเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันกับเซลล์มะเร็งซึ่งส่งผลต่อการต้านการอักเสบที่เกิดจากมะเร็งหรือการเข้าไปยับยั้งการหลั่ง VEGF ของเซลล์ในกล้ามเนื้อเรียบของหลอดเลือดซึ่งจะไปส่งผลในการขัดขวางต่อการสร้างหลอดเลือดใหม่ของเซลล์มะเร็ง (วิภพ สุทธนะ, 2556)

2.4.2.1 ไอโซฟลาโวน (Isoflavone)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป มอก 315. เล่ม 123 ไอโซฟลาโวนจัดเป็นรงควัตถุแต่ไม่ถูกจัดเป็นสารอาหารเนื่องจากไม่ให้พลังงานและไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย สามารถพบได้ในอาหาร เช่น ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เช่น เต้าหู้ เต้าเจี้ยวถั่วเน่า น้ำเต้าหู้ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบได้ในถั่วเมล็ดแห้งอื่นได้อีก เช่น ถั่วเขียว ถั่วลันเตา เป็นต้น

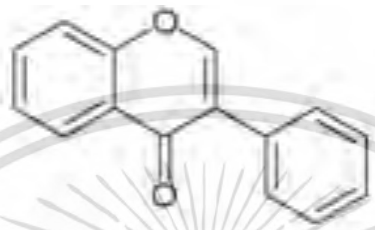
สารโอโซฟวาโวนที่สามารถพบได้ทั่วไปในถั่วเหลืองนั้น เป็นไอโซฟลาโวนที่มีน้ำาตาล ในโมเลกุล เรียกว่า สารกลุ่มไกลโคไซด์ (Glycoside) ได้แก Daidzin, GenistinและGlycitin และสารประกอบไอโซฟลาโวนที่ปราศจากน้ำตาลในโมเลกุล เรียกว่า สารกลุ่มอะไกลโคน (Aglycones) ได้แก่ Daidzein, Genistein และGlycitein ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ที่ดีต่อสุขภาพ และเป็นสารโภชนเภสัชที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและยังเป็น สารในกลุ่มไฟโตอิสโทรเจน (Phytoestrogen) สารในกลุ่มไกลโคไซด์เมื่อรับประทานเข้าไปในร่างกายจะถูก เปลี่ยนโครงสร้างโดยจุลินทรีย์ ในลำไส้เกิดเป็นสารในกลุ่มอะไกลโคนขึ้น (Heinonen, 2002)

ไอโซฟลาโวนนั้นมีผลต่อระดับฮอร์โมนของเพศหญิงเนื่องจากเอสโตรเจนจะมีปริมาณลดลงในหญิงวัยหมดประจำเดือนแล้ว (Kerry และคณะ, 2000) ดังนั้นผลิตภัณฑ์ของอาหารที่ประกอบไปด้วยสารสกัดจากถั่วเหลือง จึงเป็นอาหารที่มีส่วนในการช่วยป้องกันโรคในกลุ่มของผู้ที่สูงอายุ ได้แก่ กลุ่มของโรคหัวใจและหลอดเลือดโดยมีผลในการเข้าไปช่วยในการลดปริมาณของคลอเลสเตอรอลในเลือดลงได้และยังป้องกันโรคเบาหวาน โรคมะเร็งและยังช่วยในการปรับระดับฮอร์โมนของผู้หญิงในวัยหมดประจำเดือนได้อีกด้วย

กระบวนการหมักนั้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของไอโซฟลาโวนเนื่องจากพบว่าไอโซฟลาโวนในกลุ่มไกลโคไซด์ที่พบในถั่วเหลืองนั้นจะถูกย่อยสลายไปโดยเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ ในกระบวนการหมักทำให้เกิดปริมาณของไอโซฟลาโวนในกลุ่มอะไกลโคนนั้นมีปริมาณสูงขึ้นในระหว่าง กระบวนการหมัก (Kwak และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไอโซฟลาโวนเป็นจัดเป็นไฟโตเอสโตรเจนชนิดหนึ่งซึ่งจะสามารถพบได้ในพืชชนิดต่างๆโดยเฉพาะถั่วเหลืองและสารในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจนนั้นจะมีโครงสร้างและการออกฤทธิ์คล้ายคลึงกับ ฮอร์โมนเอสโตรเจน (Setchell, 1998) ดังนั้นกล่าวได้ว่าไฟโตเอสโตเจนนั้นเป็นสารที่สามารถนำมาใช้ใน การทดแทนการขาดแคลนหรือการลดลงของปริมาณฮอร์โมนเอสโตรเจนได้ ซึ่งฮอร์โมนเอสโตรเจนนั้นมี ความสำคัญและจำเป็นต่อผู้หญิงในวัยหมดประจำเดือนแล้วแต่อย่างไรก็ตามการให้ฮอร์โมนทดแทนนั้น ยังคงมีความเสี่ยงในการเกิดผลข้างเคียงได้



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างพื้นฐานของไอโซฟลาโวน
ที่มา : Wang และคณะ (2018)

2.4.3 ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogen)

ไฟโตเอสโตรเจนนั้นมีโครงสร้างและการออกฤทธิ์ที่มีความคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจน แต่ยังคงมีฤทธิ์ที่น้อยกว่าประมาณ 1000-10000 เท่า (Messina และคณะ, 1994) และสารในกลุ่มของไฟโตเอสโตรเจนนั้นจัดเป็นสารประกอบเอสโตรเจนที่พบได้ในพืชมากกว่า 300 ชนิดแต่สามารถพบ ได้มากที่สุดในถั่วเหลืองโดยที่ไฟโตเอสโตเจนนั้นสามารถจับตัวกับตัวรับเอสโตรเจนเบต้าที่กระดูก สมอง และกระเพาะปัสสาวะทำให้สามารถลดการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ นอกจากนี้ยังมีสารที่สำคัญ ชนิดอื่นอีก เช่น สารยับยั้งเอนไซม์โปรติเอส (Protease inhibitor) ไฟโทสเตียรอล (Phytosteriod) กรดฟีนอลิก สารซาโปนิน (Saponin) เลซิทิน (Lecithin) และกรดโอเมก้า 3 ไฟโตอิสโตรเจนที่สามารถพบได้มากในอาหารประจำวัน คือ ไอโซฟลาโวนจะพบได้มากในถั่วเมล็ดแห้งหลายชนิด โดยแหล่งอาหารที่สำคัญ ของไฟโตอีสโตรเจน คือ ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากถั่วเหลือง เช่น เต้าหู้ ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว โดยมี ไอโซฟลาโวนที่สำคัญ คือ เดดซีน (Daidzein) และจีนีสทีน (Genistein) โดยชนิดของไฟโตเอสโตรเจนนั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด ได้แก่

1. สารกลุ่มไอโซฟลาโวน สารในกลุ่มไอโซฟลาโวนนี้มีฤทธิ์คล้ายกับฮอร์โมนของเพศหญิงมาก เนื่องจากมี สูตรทางโครงสร้างที่มีความคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเพศและยังสามารถที่จะจับตัวกับ ตัวรับเอสโตรเจนในเซลล์ได้อีกด้วย โดยสารที่สามารถพบได้ในกลุ่มนี้ ได้แก่ เดดซีนและเจนีสทีน พบได้ใน ถั่วเหลือง ถั่วเขียว ถั่วดำ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. สารกลมเทอร์พีน (Terpene) สารกลุ่มกลมเทอร์พีนจะมีฤทธิ์เป็น Estrogenic activity ได้แก่ สารในกลุ่มของไตรเทอพินอยด์และกลุ่มของซาโปนิน ได้แก่ อะไซติโคไซด์ (Asiaticoside) ซึ่งจะสามารถพบได้ในใบบัวบก ผลมะคำดีควายและผลคัดเค้า

3. สารกลุ่มลิกแนน (Lignan) สารในกลุ่มนี้จะมีฤทธิ์ที่คล้ายคลึงกับฮอร์โมนเพศ ได้แก่ เอนเทอโรแลคโตน (Enterolactone) และเอนเทอโรไดออล (Enterodiol) จะสามารถพบได้มากในเส้นใยของพืช ดังนั้นสตรีที่อยู่ในวัยที่ใกล้หมดประจำเดือนมักจะถูกแนะนำให้รับประทานผักหรือพืชที่มีประกอบไปด้วยเส้นใยเนื่องจากมีสารที่ออกฤทธิ์เป็น Estrogenic effect และไฟโตเอสโตรเจนที่พบได้มากในอาหาร คือ ไอโซฟลาโวนซึ่งพบได้ในถั่วหลากหลายชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในถั่วเหลืองโดยในถั่วเหลืองนั้นสารไอโซฟลาโวนที่สำคัญคือ เดดซีนและจีนีสทีน

2.5 โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปตามความหมายของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 315, 2548) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวผ่านกระบวนการทำให้สุกและทำให้แห้งมีลักษณะเป็นเม็ดหรือเกล็ดเล็กๆพร้อมเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรสต่างๆการผสมเนื้อสัตว์หรือผักที่ทำให้สุกและแห้งแล้วโดยรักษาคุณภาพและกลิ่นรสของส่วนประกอบไว้ได้ ทำให้สุกรับประทานได้ในระยะเวลาสั้นไม่เกิน 10 นาที โดยลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจะต้องมีกลิ่นและสีตามธรรมชาติของวัตถุที่ใช้และไม่มีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ความชื้นไม่เกินร้อยละ 7 โดยน้ำหนักและมีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก

2.5.1 ลักษณะของโจ๊กที่ต้องการมีดังนี้

1. ลักษณะทั่วไปโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปต้องมีสีและกลิ่น ตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้และไม่มีกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจก่อนเติมน้ำเดือดหรือทำให้สุก

2. ลักษณะเนื้อและกลิ่นรส เมื่อปรุงตามวิธีที่ระบุไว้ที่ฉลากแล้ว ต้องคุยและมีกลิ่นวงการส่วนประกอบที่ใช้ เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามแล้ว ต้องมีคะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคน ไม่น้อยกว่า 2.4 คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

3. ความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) 926.07

4. โปรตีนต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) 930.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ ปริมาณโปรตีน = ปริมาณไนโตรเจน x 6.25

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงาน

3.1วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

กากถั่วเหลือง จากบริษัท แลคตาซอย จำกัด

ข้าวหอมมะลิหักปลาย จากบริษัท ธนสรรไรซ์, ไทย

เชื้อจุลินทรีย์ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3138 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 สารเคมี

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Aldrich, Germany

Carboxymethyl cellulose (CMC), china

Folin–Ciocalteu reagent, Sigma-aldrich, USA

Gallic acid ($C_7H_6O_5$), Sigma-aldrich, USA

Maltodextrin, Dongxiao, china

Methanol (CH_3OH), Merck, Germany

Sodium Carbonate (Na_2CO_3), KEMAUS, Auatralia

Trolox, Sigma-Aldrich, U.S.A.

Peptone, HiMeDia, India

Potato dextrose agar (PDA), HiMeDia, India

Plate Count Agar (PCA), Difco, BBL™, UAS

Sodium chloride, HiMeDia, India

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

เครื่องชั่ง (Balance): (Mettler Toledo, Germany)

เครื่องปั่น (Blender): (Electrolux, China)

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Refrigerated centrifuge): รุ่น5804R (Thermo sorvall, Germany)

เครื่องล้างชิ้นงานความถี่สูง(ultrasonic bath): รุ่นE100H (ELMA, Germany)

เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Multimode microplate reader): EnSight (PerKinElmer,inc)

ตะกร้อไฟฟ้า (Hand muzzle): EHM3407 (Electrolux, China)

ตู้ปลอดเชื้อ (Biological Safety Cabinet): HR30-IIA2 (Haier, China)

ตู้อบลมร้อนแบบมีพัดลม (Hot air oven with Force): (BINDER™, Germany)

ไมโครเวฟ (Microwave): MR-30A (Electrolux, China)

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave): (tommy, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การหมักกากถั่วเหลือง

ทำละลายกากถั่วเหลือง 2 กิโลกรัม และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พร้อมทั้งอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมัก จากนั้นพักไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 30-35 องศาเซลเซียส ใช้ผ้าขาวบางบีบน้ำออกจากกากถั่วเหลืองภายในตู้ปลอดเชื้อ จากนั้นเติมเชื้อรา *R. oligosporus* TSTR 3138 ปริมาณ 20 กรัม คลุกให้เข้ากันจนทั่ว และตักใส่ถุงซิปล็อคที่เจาะรูเตรียมไว้ ถุงละ 100 กรัม หลังจากนั้นนำไปแขวนไว้ในกล่องพลาสติก และคลุมด้วยผ้าขาวบาง หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง (ดัดแปรจาก Weng และคณะ, 2017)

เก็บตัวอย่างกากถั่วเหลืองหมัก ในชั่วโมงที่ 0 24 48 และ ชั่วโมงที่ 72 ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* TSTR 3138 วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

3.3.2 วิธีการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* TSTR 3138

วิเคราะห์การเจริญเชื้อโดยชั่งตัวอย่าง 1 กรัมเจือจางในสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นทำการเจือจางอย่างเป็นลำดับที่ระดับการเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำเกลือ 0.85% จากนั้นนำมา Spread plate บนอาหาร Potato dextrose agar บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการนับโคลีนีเชื้อราในหน่วย colony forming units (CFU) (ดัดแปรจาก Weng และคณะ, 2017)

3.3.3 วิธีการวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH)

ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมเจือจางในสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ตีปั่นเป็นเวลา 1 นาที ก่อนนำไปวัดค่าความเป็นกรดด่าง

3.3.4 การแปรรูปโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปด้วยวิธีโฟมแมท (Foam-mat drying)

วิธีการแปรรูปโจ๊กแบบโฟมแมท ดัดแปรมาจากวิธีการของ กฤติยา และรวิพร (2562) โดยแบ่งเป็น 4 สภาวะการการทดลองดังตารางที่ 3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนน้ำต่อข้าวปลายหักหอมมะลิและกากถั่วเหลืองหมักในการแปรรูปโจ๊ก

สภาวะการทดลอง	ข้าวปลายหักหอมมะลิ (%w/w)	กากถั่วเหลืองหมัก (% w/w)	ข้าว/กากถั่วเหลือง-หมักต่อน้ำ
โจ๊กกากถั่วเหลืองหมัก	-	100	1:5
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 75%	25	75	1:5
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 50%	50	50	1:2
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ	100	-	1:7

สภาวะการทดลองที่มีส่วนผสมของข้าวหอมมะลิปลายหัก จะนำข้าวซาวล้างน้ำ และต้มข้าวให้สุกก่อนผสมกากถั่วเหลืองหมักลงไป ในสภาวะการทดลองที่ไม่มีข้าวเป็นส่วนผสมจะต้นจนกากถั่วเหลืองเละเป็นเนื้อเดียวกัน เติม 1% maltodextrin โดยอุณหภูมิต้มอยู่ที่ 80-85 องศาเซลเซียส จากนั้นพักให้เย็นที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส และนำไปชั่งน้ำหนัก ก่อนเตรียมสารละลายก่อโฟม 1 % CMC (w/w) โดยละลายสารก่อโฟมในน้ำอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมลงในโจ๊กที่ทำไว้ นำไปปั่นโดยเครื่องปั่นด้วยความเร็วต่ำ 1 นาที จากนั้นปั่นต่อด้วยตะกร้อไฟฟ้าใช้ความเร็วสูงสุด 15 นาที เทใส่ถาดที่รองด้วยกระดาษไข นำเข้าอบด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง เมื่อแห้งแล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นให้เป็นผง

3.3.5 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่าง

3.3.5.1 การสกัดตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างได้ดัดแปรตามวิธีของ Dajanta และคณะ (2013) และ Samruan และคณะ (2012) นำตัวอย่างมาสกัดด้วย 80% เมทานอล ดังอัตราส่วนที่แสดงในตารางที่ 3.2 ด้วยเครื่อง ultrasonic bath ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปหมุนปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 4,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที เก็บตัวอย่างส่วนใส ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 อัตราส่วนตัวอย่างต่อปริมาตร 80% เมทานอลในการสกัด

ตัวอย่าง	รหัสตัวอย่าง	อัตราส่วนตัวอย่าง ต่อ ปริมาตร 80% เมทานอล (g/ml)
กากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก	UO	1:3
กากถั่วเหลืองหมัก 72ชั่วโมง	FO	
โจ๊กกากถั่วเหลืองหมัก	K100	
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 75%	K75	1:2
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 50%	K50	
โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ	R100	

3.3.5.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds)

การวิเคราะห์ตามวิธีของ Shukla และคณะ (2016) โดยมีวิธีดังต่อไปนี้ นำสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin ลงใน 96 well plate จับเวลา 3นาที จากนั้นเติม 10% aqueous sodium carbonate ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ปล่อยไว้ 1ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปวิเคราะห์วัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารละลาย Gallic acid ที่ความเข้มข้น 0 25 50 70 100 และ125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลายไร้สิ่งตัวอย่างเป็น blank

3.3.5.3 การวิเคราะห์กิจกรรมในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH radical-scavenging method

ดัดแปลงจากวิธีของ Chatatikun และ Chiabchalard (2013) นำสารสกัดตัวอย่าง ปริมาตร 60 ไมโครลิตร สผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.16mM ปริมาตร 140 ไมโครลิตร ลงใน 96 well plate เก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวิเคราะห์วัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานด้วยสารละลาย Trolox ที่ความเข้มข้น 0 10 20 30 และ40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลายไร้สิ่งตัวอย่างเป็น blank

3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังการแปรรูป

ดัดแปลงมาจากวิธีของ Harrigan (1998) เตรียมตัวอย่างโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปโดยชั่งตัวอย่างโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปที่ปั่นละเอียดแล้ว 5 กรัม ใส่ถุงและเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน ปริมาตร 45 มิลลิลิตร ตีปั่นเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

เวลา 2นาที จากนั้นทำการเจือจางอย่างเป็นลำดับที่ระดับการเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำเกลือ0.85% ถึงความเข้มข้นที่ 10^6 นำมา Spread plate บนอาหาร Plate Count Agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนทำการนับจำนวนโคโลนีในหน่วย colony forming units (CFU)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

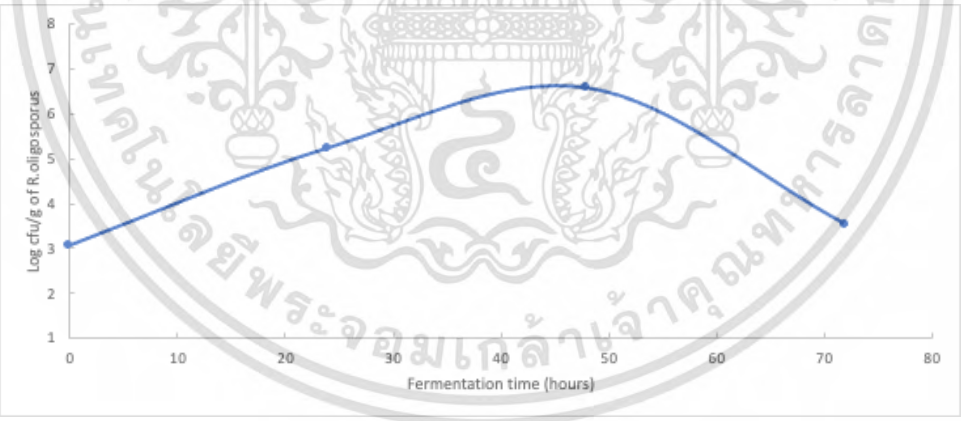
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

งานวิจัยนี้ได้ทำการหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เพื่อทำการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อราและการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างระหว่างกระบวนการหมัก จากนั้นทำการนำกากถั่วเหลืองหมักมาแปรรูปเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

4.1 ผลการศึกการเจริญของเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 ระหว่างการหมักกากถั่วเหลือง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 ระหว่างการหมักกากถั่วเหลือง ชั่วโมงที่ 0 24 48 และ 72 เชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 มีการเจริญเติบโตดีที่สุดอยู่ในช่วง 48 ชั่วโมง มีค่าการเจริญเท่ากับ 6.56 Log cfu/g และลดจำนวนลงชั่วในโมงที่ 72 ดังภาพที่ 4.1



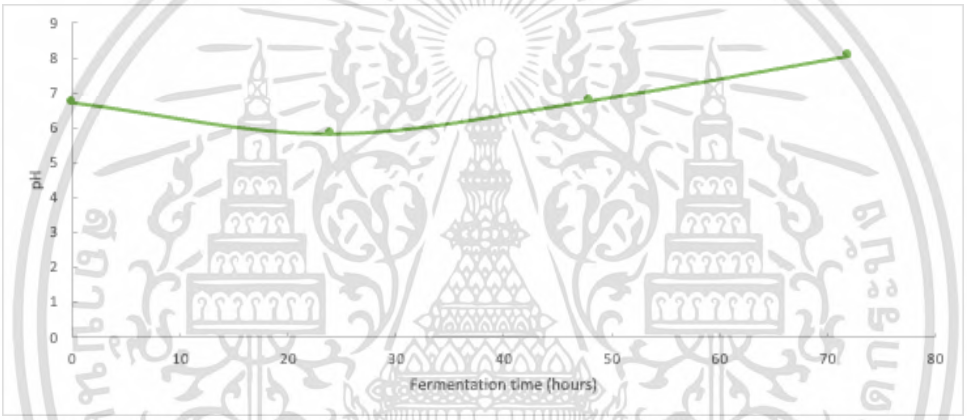
ภาพที่ 4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 ระหว่างการหมัก

จากภาพที่ 4.1 แสดงให้เห็นว่าจากชั่วโมงที่ 0 เชื้อมีการเจริญอย่างต่อเนื่องและเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 ก่อนที่จะค่อยๆลดจำนวนลงจนถึงชั่วโมงที่ 72 ตรงตามทฤษฎีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ของ วราวุฒิ (2529) ที่ว่าเชื้อจุลินทีย์มีการเจริญ 4 ระยะ ได้แก่ 1) ระยะปรับตัว (Lag phase) เป็นระยะที่จุลินทรีย์ปรับตัวกับสิ่งแวดล้อมหรืออาหารเลี้ยงเชื้อ 2) ระยะเติบโตทวีคูณ (Log phase) หลังจากปรับตัวได้แล้ว จุลินทรีย์จะทำการแบ่งตัวอย่างรวดเร็ว อัตราการเจริญเพิ่มขึ้นสูงที่สุด 3) ระยะคงที่ (Stationary phase)

หลังจากอัตราการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นสูงสุดก็จะเข้าสู่ระยะสมดุล เป็นช่วงที่อัตราการเพิ่มและลดของจำนวนของจุลินทรีย์มีอัตราเท่ากัน และระยะสุดท้าย 4) ระยะการตาย (Death phase) เป็นระยะที่อัตราการตายมากกว่าอัตราการเจริญ จากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ลดอัตราการแบ่งเซลล์อย่างทวีคูณ

4.2 ผลการศึกษาค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ในระหว่างการหมัก

จากการศึกษาค่าความเป็นกรดด่างในระหว่างการหมักด้วยเชื้อรา *R. oilgosporus* TISTR 3138 พบว่า pH ที่ชั่วโมงเริ่มต้นเท่ากับ 6.72 และค่อยๆลดลงถึง 5.82 ในชั่วโมงที่ 24 ก่อนเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 6.67 และเพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 8.06 ดังภาพที่ 4.2



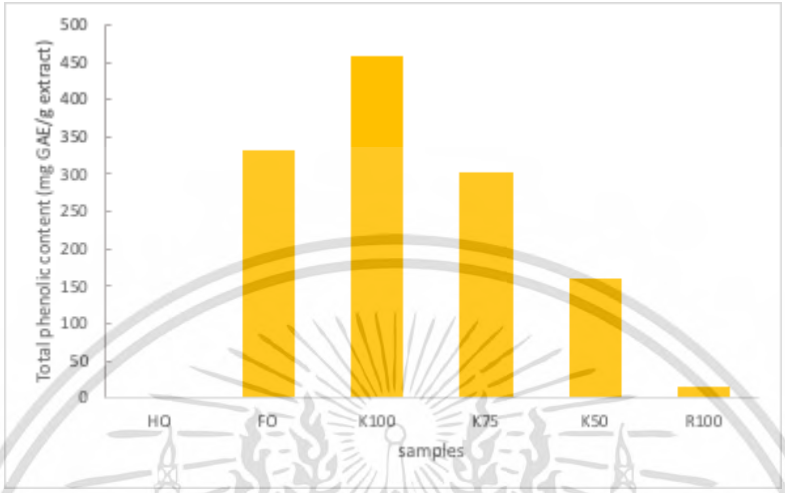
ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างระหว่างการหมัก

ค่าความเป็นกรดด่าง หรือค่า pH เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อกระบวนการหมัก ตามการศึกษาของ Azizah และคณะ (2012) ได้กล่าวไว้ว่าค่า pH ในระหว่างกระบวนการหมักจะถูกชักนำจากวัตถุดิบในการหมัก ซึ่งสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อรา ใน 24 ชั่วโมงแรก pH มีค่าลดลงเนื่องจากเชื้อรา *R. oilgosporus* ได้ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยคาร์โบไฮเดรตออกมาเพื่อใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนในระหว่างการหมัก และปล่อยสารประกอบที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น น้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharides) น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Disaccharides) และ กรดอินทรีย์ ทำให้ pH มีค่าลดลง (Cempaka และ Aryantha, 2014) นอกจากนี้ Suprihatin (2010) ยังศึกษาว่า *R. oilgosporus* สามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอส (Protease) ทำให้เกิดกิจกรรมการย่อยสลายโปรตีน (Proteolytic activity) เพิ่มการละลายของสารประกอบไนโตรเจนในกระบวนการหมัก ทำให้ ค่า pH เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างกากถั่วเหลืองหมักและโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปแสดงดังภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใน 6 ตัวอย่าง

จากผลวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่ากากถั่วเหลืองหมัก 72 ชั่วโมงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นหลังจากการหมัก เท่ากับ 331.48 mg GAE/g extract ตามการศึกษาของ Nout และ Kiers (2005) ว่าเชื้อรา *R. oilgosporus* สามารถผลิตเอนไซม์ Alpha และ Beta – glucosidase ในระหว่างการหมัก ซึ่งสามารถย่อยและปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกที่ผนังเซลล์ให้ออกมาอยู่ในรูปอิสระที่เรียกว่า Aglycone isoflavones ส่งผลให้ประมาณสารประกอบฟีนอลิกในกากถั่วเหลืองหมักเพิ่มขึ้นและจากตัวอย่างโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป พบว่า โจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมักมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 458 mg GAE/g extract ซึ่งมากกว่ากากถั่วเหลืองหมัก 72 ชั่วโมง เนื่องจากความร้อนในระหว่างกระบวนการแปรรูปเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจะทำลายผนังเซลล์ของกากถั่วเหลืองและทำให้สารประกอบฟีนอลลิกที่ผนังเซลล์ถูกปล่อยออกมาเป็นอิสระเพิ่มมากขึ้น ตามการศึกษาของ Weng และคณะ (2017) ในขณะที่โจ๊กจากข้าวปลายหักหอมมะลิมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด เท่ากับ 20 mg GAE/g extract

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

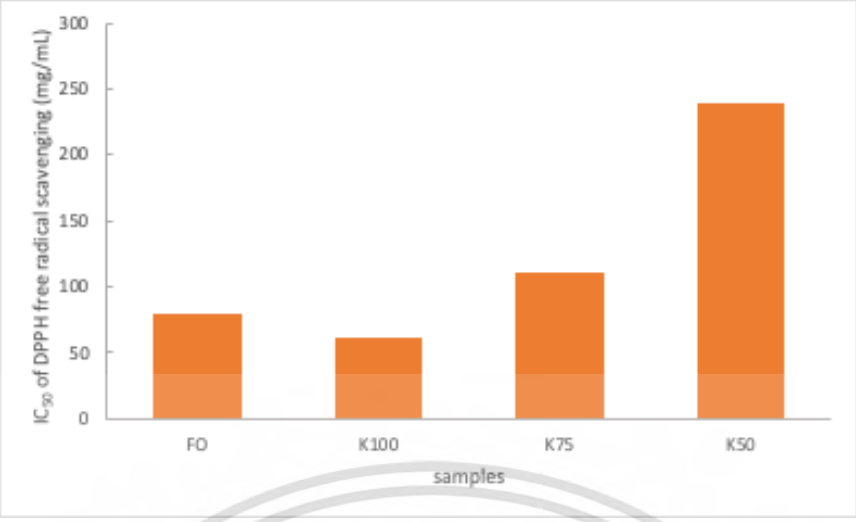
4.4 ผลการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging assay

จากการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของกากถั่วเหลืองหมักและโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมักด้วยวิธี DPPH พบว่า กากถั่วเหลืองหมักมีค่าร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก คือร้อยละ 46.269 ± 3.14 และเมื่อนำกากถั่วเหลืองหมักมาแปรรูปเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป พบว่า ตัวอย่างโจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมักมีร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลิอิสระสูงที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 66.82 ± 1.33 ในขณะที่โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ มีร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูล-อิสระน้อยที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 11.21 ± 3.72 ดังตารางที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่กล่าวไปข้างต้นในข้อ 4.3 และเมื่อคิดเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่า โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมัก ยังคงมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากที่สุด คือเท่ากับ 60.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และไม่สามารถหาค่าความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 ของกากถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านการหมัก และโจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิได้ ดังภาพที่ 4.4

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าร้อยละของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ตัวอย่าง	% scavenging activity
UO	2.95 ± 0.163
FO	46.269 ± 3.14
K100	66.82 ± 1.33
K75	41.37 ± 2.95
K50	32.32 ± 1.47
R100	11.21 ± 3.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.4 ความเข้มข้นของสารที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 (IC_{50})

IC_{50} (Inhibitory Concentration 50%) คือ ค่าความเข้มข้นที่สารมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% ดังนั้นหากค่า IC_{50} ของสารมีค่าน้อยหมายถึงสารนั้นจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระมาก

4.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังแปรรูป

เนื่องจากการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมดหลังการแปรรูปไม่ได้ถูกวางแผนไว้ในตอนต้น ตัวอย่างที่นำมาตรวจสอบจึงเป็นตัวอย่างที่ถูกเก็บหลังจากการแปรรูปแล้วเป็นเวลา 15 วัน พบว่าตัวอย่างโจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิกึ่งสำเร็จรูป มีจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน 5 Log cfu/g ในขณะที่ โจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมักทั้ง 3 สภาวะการทดลอง มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด อยู่ที่ 6 Log cfu/g ซึ่งเกินเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมว่าด้วยเรื่อง มาตรฐานผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากผลการทดลองกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า กากถั่วเหลืองหมักมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เท่ากับ 331.48 mg GAE/g extract และร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 46.27±3.14 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก คือ 2.68 mg GAE/g extract และ 2.95± 0.16 ตามลำดับ และเมื่อนำกากถั่วเหลืองหมักมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊ก พบว่า โจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมัก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ในช่วง 160.44 ถึง 458.68 GAE/g extract และร้อยละ 32.32 ถึง 66.82 ตามลำดับ ในขณะที่โจ๊กข้าวหักปลายหอมมะลิ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH น้อยที่สุด เท่ากับ 15.44 mg GAE/g extract และร้อยละ 11.21 ตามลำดับ

กากถั่วเหลืองที่หมักด้วย *Rhizopus oilgosporus* สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ และสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการเสริมคุณค่าให้กับผลิตภัณฑ์โจ๊กที่ผลิตจากข้าวเพื่อเพิ่มคุณสมบัติการเป็นอาหารฟังก์ชัน (Functional food) ได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในอนคตควรควรมีการศึกษาอายุการเก็บรักษา และอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อราหรือสปอร์ของเชื้อรา *R. oilgosporus* ไม่สามารถเพิ่มจำนวนได้อีกเพื่อความมั่นใจในความปลอดภัยแก่โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลืองหมัก

5.2.2 ในอนาคตควรมีการเก็บข้อมูลความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อ กลิ่น สี รสชาติของผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปจากกากถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กฤติยา เขื่อนเพชร, รวิพร พลพืช, กนกพร ลีวาณิชยกูล และศิริยา กาวีเขียว. 2562. ผลของชนิดข้าวและวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของโจ๊กข้าวไรซ์เบอร์รี่กึ่งสำเร็จรูปผสมแก่นตะวัน. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

นวิญญา พิมพา และดรุณี ศรีชนะ. 2020. คุณค่าทางโภชนะของกากนมถั่วเหลืองหมักโดย *Aspergillus niger* เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์. Thai Journal of Science and Technology. 9(3): 290-297.

เบญจวรรณ วานมนตรี, เทวรัตน์ ตรีอำนรรค, ภัทรา จิตกุศล และวุฒิธนา สิงห์คง. 2556. การศึกษาการอบแห้งโจ๊กข้าวกล้องงอกกึ่งสำเร็จรูปด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง. สาขาวิชาวิศวกรรมเกษตร สำนักวิชาวิศวกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

วนิดา เทวารุทธิ์ ชิติสวรรค์กุล. 2561. กากถั่วเหลืองคุณค่าที่ถูกทิ้ง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :https://kukr.lib.ku.ac.th/kukr_es/bkn/search_detail/result/20014231. 10 พฤษภาคม 2566

วราวุฒิ ครูส่ง 2539 เทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์ โอเดียนสโตร์.163 น.

วิภพ สุทธนะ. 2556. ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. แขนงวิชาเคมีคลินิก สาขา เทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2549. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป มอก 315. เล่ม 123

Azizah, N., Al-Baarri, AN. and Mulyani, S. 2012. Effect of fermentation time on alcoholcontent, pH and gas production on the bioethanol fermentation process of whey with pineapple skin substitution. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 1 (2): 72-77.

Balasundram, N., Tan, Y.A., Sambanthamurthi, R., Sundram, K. and Samman, S. 2005. Antioxidant properties of palm fruit extracts. Asia Pacific journal of clinical nutrition. 14(4): 319.

Bhunia, B., Basak, B. and Dey, A. 2012. A review on production of serine alkaline protease by *Bacillus* spp. Journal of Biochemical Technology, 3, 448-457.

Cempaka, L. and Aryantha, INP. 2015. Effect of Glucose Concentration on the Production of β-glucan by Saccharomyces cerevisiae. 2nd AsiaAustralia Dairy Goat Conference, 26-27 April 2014, Bogor, Indonesia. [Indonesian]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chang, C.T., Hsu, C.K., Chou, S.T., Chen, Y.C., Huang, F.S. and Chung, Y.C. 2009. Effect of fermentation time on the antioxidant activities of tempeh prepared from fermented soybean using *Rhizopus oligosporus*. International journal of food science & technology. 44(4): 799-806.

Chatatikun, M. and Chiabchalard, A. 2013. Phytochemical screening and free radical scavenging activities of orange baby carrot and carrot (Daucus carota Linn.) root crude extracts. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research. 5(4): 97-102.

Dajanta, K., Janpum, P. and Leksing, W. 2013. Antioxidant capacities, total phenolics and flavonoids in black and yellow soybeans fermented by *Bacillus subtilis*: A comparative study of Thai fermented soybeans (thua nao). International Food Research Journal, 20(6), 3125.

Deacon, J.W. 1997. Modern Mycology. Oxford: Blackwell Science. 303 p.

Dechsupa, S., Kothan, S., Vergote, J., Leger, G., Martineau, A., Beranger, S. and Mankhetkorn, S. 2007. Quercetin, Siamois 1 and Siamois 2 induce apoptosis in human breast cancer MDA-mB-435 cells xenograft in vivo. Cancer biology & therapy. 6(1):56-61.

Gerich, J.E., Meyer, C., Woerle, H.J. and Stumvoll, M. 2001. Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. Diabetes Care. 24(2), 382-391.

Harrigan, W.F. 1998. Laboratory Methods in Food Microbiology (3rd ed.). London, UK: Academic Press.

Hollman, P.C.H. 2004. Absorption, Bioavailability and Metabolism of Flavonoids. Pharm Biology. 42 :74-83.

Hur, S.J., Lee, S.Y., Kim, Y.C., Choi, I. and Kim, G. B. 2014. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. Food Chemistry, 160, 346-356.

Hussain, S.R., Cillard, J. and Cillard, P. 1987. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. Phytochemistry. 26: 2489-2491.

Jennessen, J., Nielsen, K.F., Houbraken, J., Lyhne, E.K., Schnürer, J., Frisvad, J.C. and Samson, R.A. 2005. Secondary metabolite and mycotoxin production by the *Rhizopus microsporus* group. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53 (5): 1833–1840.

Jennessen, J., Schnürer, J., Olsson, J., Samson, R.A. and Dijksterhuis, J. 2008. Morphological characteristics of sporangiospores of the tempe fungus *Rhizopus oligosporus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

differentiate it from other taxa of the *R. microsporus* group. Mycological research. 112(5): 547-563.

Kasai, N., Murata, A., Inui, H., Sakamoto, T. and Kahn, R. I. 2004. Enzymatic high digestion of soybean milk residue (okara). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(18), 5709-5716.

Kerry, E.W., Alison, M.D., Barb, E.M D., Xia, X., Robert, M., William, R.P. and Mindy, S. K. 2000. Effects of soy isoflavones on markers of bone turnover in premenopausal and postmenopausal woman. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 85: 3043-3048

Kobayasi, S.Y., Okazaki, N. and Koseki, T. 1992. Purification and characterization of an antibiotic substance produced from *Rhizopus oligosporus* IFO 8631. Bioscience, biotechnology and biochemistry. 56(1): 94-98.

Kwak, C.K., Lee, M.S. and Park, S.C. 2007. Higher antioxidant properties of Chungkookjang a fermented soybean paste, may be due to increased aglycone and malonylglycoside isoflavone during fermentation. Nutrition Research. 27: 719-727.

Li, B., Qiao, M. and Lu, F. 2012. Composition, nutrition, and utilization of okara (soybean residue). Food Reviews International, 28(3), 231- 252.

Mateos-Aparicio, I., Redondo-Cuenca, A. and Villanueva-Suárez, M.J. 2010. Isolation and characterisation of cell wall polysaccharides from legume by-products: Okara (soymilk residue), pea pod and broad bean pod. Food chemistry, 122(1), 339-345.

McCue, P. and Shetty, K. 2003. Role of carbohydrate-cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with *Rhizopus oligosporus*. Food Biotechnology, 17, 27–37.

Messina, M.J., Persky, V., Setchell, K.D. and Barnes, S. 1994. Soy intake and cancer risk: a review of the in vitro and in vivo data. Nutrition and cancer. 21(2): 113-131.

Mitchell., D.A., Greenfield, P.F. and Docile, H. 1991. An empirical Mode of growth of *Rhizopus oligosporus* on a model substrate in solid-state fermentation. *World J. Microbiol. Biotechnolgy*. 1990, 6, 201-208.

Nout, M. and Kiers, J. 2005. Tempe fermentation, innovation and functionality: Update into the third millenium. Journal of Applied Microbiology, 98, 789–805.

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

O'Toole, D.K. 1999. Characteristics and use of okara, the soybean residue from soy milk production: a review. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47(2): 363- 371.

Pietta, P.G. 2000. Flavonoids as antioxidants. Journal of natural products. 63(7): 1035- 1042.

Raimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. Electron. J. Biotechnology., 1: 174-188.

Rashad, M.M., Mahmoud A.E., Abou, H.M. and Nooman, M.U. 2011. Improvement of nutritional quality and antioxidant activities of yeast fermented soybean curd residue. African Journal of Biotechnology 10.28 (2011): 5504-5513.

Rawlings, N.D. and Barrett, A.J. 1993. Evolutionary families of peptidases. Biochemical Journal. 290(1): 205-218.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. 1996. Structure antioxidant activity relationship of flavonoid and phenolic acid. Free Radical Biology and Medicine. 20: 953-956.

Rice-Evans, C.A., Miller, N.T. 1995. The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids. Free Rad. Res. 22(4): 3785-93.

Samruan, W., Oonsivilai, A. and Oonsivilai, R. 2012. Soybean and fermented soybean extract antioxidant activities. *World Acad Sci Eng Technol*, *6*(12), 1134-7.

Setchell. and K.D.R. 1998. Phytroestrogens: The biochemistry, physiology and implications for human health of isoflavones. The American Journal of Clinical Nutrition. 68: 1333-1346

Shukla, S., Park, J., Kim, D.H., Hong, S.Y., Lee, J.S. and Kim, M. 2016. Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and α-glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture Doenjang, a Korean fermented soybean sauce variety. Food Control, *59*, 854-861.

Sparringa, RA. and Owens, JD. 1999. Protein Utilization during soybean tempeh fermentation. J Agric Food Chem 47: 4375-4378.

Steinkraus, K.H. 1996. Introduction to Indigenous Fermented Foods. p. 1-5. In K.H. Steinkraus ed. Handbook of Indigenous Fermented Foods. New York. Marcel Dekker.

Suprihatin. 2010. Teknologi Fermentasi. UNESA Press, Surabaya. [Indonesian]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Techaoei, S. 2018. Bacterial and Fungal Contamination of Personal Care Product in Northern Thailand. Research JournalRajamangala University of Technology Thanyaburi, ISSN 1686-8420, Vol16, Issue 1-2, 2017.

Suttana, W., Mankhetkorn, S., Poompimon, W., Palagani, A., Zhokhov, S., Gerlo, S. and Berghe, W.V. 2010. Differential chemosensitization of P-glycoprotein overexpressing K562/Adr cells by withaferin A and Siamois polyphenols. Molecular cancer. 9(1): 1-2

Van der Riet, W., Wight, A., Cilliers, J. and Datel, J. 1989. Food chemical investigation of tofu and its byproduct okara. Food Chemistry, 34, 193–202.

Varzakas, T. 1998. *Rhizopus oligosporus* mycelial penetration and enzyme diffusion in soya bean tempe. Process Biochemistry, 33, 741–747.

Velioglu, Y.S., Mazza, G., GAO, L. and Oomah, B.D. 1988. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and gain products. Journal of Food Chem. 46: 4113-4117.

Viniegra-González, G. 1997. Solid state fermentation: definition, characteristics, limitations and monitoring. Advances in solid state fermentation, 5-22.

Vong, W. C. and Liu, S.-Q. 2016. Biovalorisation of okara (soybean residue) for food and nutrition. Trends in Food Science & Technology, 52, 139–147

Vong, W.C., Hua, X.Y. and Liu, S.-Q. 2018. Solid-state fermentation with *Rhizopus oligosporus* and *Yarrowia lipolytica* improved nutritional and flavour properties of okara. LWT 2018, 90, 316–322.

Wähälä, K., Heinonen, S. and Adlercreutz, H. 2003. Metabolism of isoflavones in human subjects. Phytochemistry Reviews, 2003, 175-182.

Wang, H.L., Swain, E.W. and Hesseltine, C.W. 1975. Mass production of *Rhizopus oligosporus* spores and their application in tempeh fermentation. J. Food Sci., 40: 168-170.

Yanai, K.O.J.I., Takaya, N.A.O.K.I., Kojima, N.O.B.U.K.O., Horiuchi, H.I.R.O.Y.U.K.I., Ohta, A.K.I.N.O.R.I. and Takagi, M.A.S.A.M.I.C.H.I. 1992. Purification of two chitinases from *Rhizopus oligosporus* and isolation and sequencing of the encoding genes. Journal of bacteriology. 174(22): 7398-7406.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zhu, Y.P., Fan, J.F., Cheng, Y.Q. and Li, L.T. 2008. Improvement of the antioxidant activity of Chinese traditional fermented okara (meitauza) using *Bacillus subtilis* 82. Food Control, 19, 654-661

Zhu, Y., Cheng, Y., Wang, L., Fan, J. and Li, L. 2008. Enhanced antioxidative activity of Chinese traditionally fermented okara (meitauza) prepared with various microorganism. International Journal of Food Properties, 11, 519–529.

Zinjarde, S.S. 2014. Food-related applications of *Yarrowia lipolytica*. Food Chemistry, 152, 1–10.

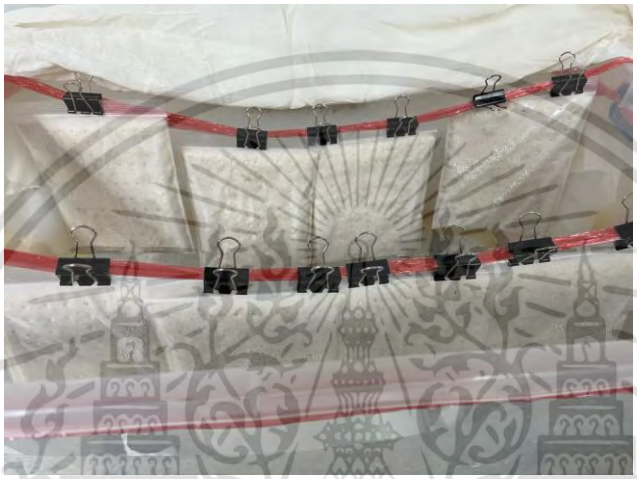
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก ภาพประกอบการหมักกากถั่วเหลืองหมักแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

ก.1 ภาพการหมักกากถั่วเหลือง โดยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138



ภาพที่ ก.1 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ ก.2 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ก.3 กากถั่วเหลืองหมักโดยเชื้อรา *Rhizopus oilgosporus* TISTR 3138 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ก.2 ภาพการแปรรูปกากถั่วเหลืองหมักเป็นโจ๊กกึ่งสำเร็จรูป

ภาพที่ ก.4 การเตรียมกากถั่วเหลืองหมักเพื่อทำโจ๊ก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ก.5 ต้มข้าวให้สุกก่อนผสมกากถั่วเหลืองหมักลงไปตามอัตราส่วนที่เตรียมไว้

ภาพที่ ก.6 การคนให้ข้าวและกากถั่วเหลืองหมักเป็นเนื้อเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ก.7 ต้มโจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมักจนกากถั่วเหลืองหมักเหลว

(ก) (ข)

ภาพที่ ก.8 ปั่นโจ๊กรวมกับสารละลาย CMC ปั่นด้วยเครื่องปั่น เป็นเวลา 1 นาที

(ก) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) (ข)

ภาพที่ ก.9 เกลี่ยโจ๊กบนถาดที่รองด้วยกระดาษไขอบด้วยตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง (ก) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

(ก) (ข)

ภาพที่ ก.10 โจ๊กหลังจากทำการอบด้วยตู้อบลมร้อน 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 ชั่วโมง

(ก) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ (ข) คือ โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิผสมกากถั่วเหลืองหมักร้อยละ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ก.11 โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปหลังแปรรูป

ประกอบด้วย 1) โจ๊กข้าวปลายหักหอมมะลิ 2) โจ๊กข้าวปลายหักหอมละมิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 50%

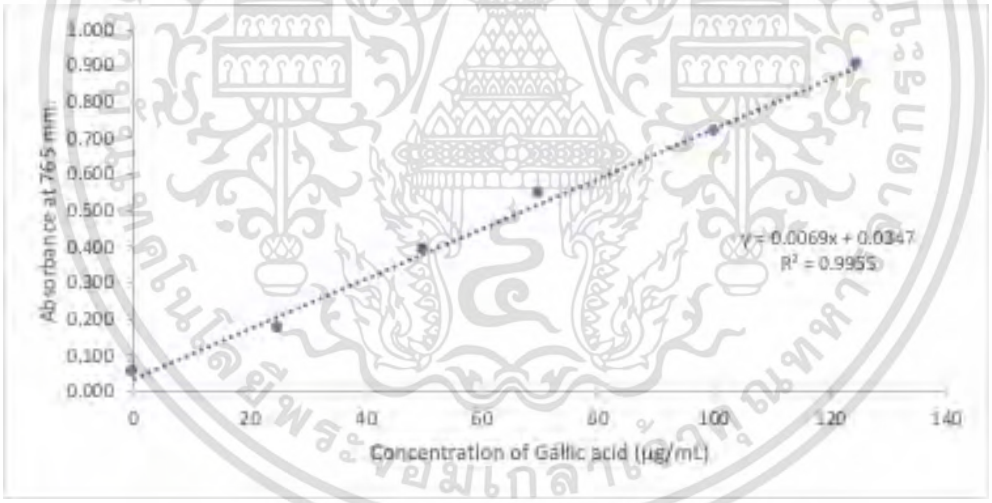
3) โจ๊กข้าวปลายหักหอมละมิผสมกากถั่วเหลืองหมัก 75% และ 4) โจ๊กจากกากถั่วเหลืองหมัก100%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข การเตรียมกราฟมาตราฐาน

ข.1 การเตรียมการฟมาตรฐานโดยใช้สารละลาย Gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) 10.2 มิลลิกรัม ละลายในเมทานอล 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเมทานอลด้วยขวดปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้มีความเข้มข้น 204 ไมโครกรัม ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่มีความเข้มข้น 0 25 50 70 100 และ 125 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายมาตรฐาน 20 µL ในแต่ละ ความเข้มข้น ใส่ลงในหลุมทดลอง 3 หลุมใน 96-well plate เติมลงในสารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ลงไป 100 µL จับเวลา 3 นาที จากนั้นเติม 10% Aqueous sodium carbonate ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งไว้ 1ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องจนเป็นสีเขียว ก่อนนำไปวิเคราะห์วัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นหาค่าเฉลี่ยแล้วนำมาพล็อตกราฟมาตราฐาน ดังภาพที่ ข.1



ภาพที่ ข.1 ความเข้มข้นสารละลายมาตราฐาน Gallic acid และ ค่าดูดกลืนแสงที่ 765 nm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 การเตรียมกราฟมาตราฐานโดยใช้สารละลาย Trolox เป็นสารละลายมาตราฐาน

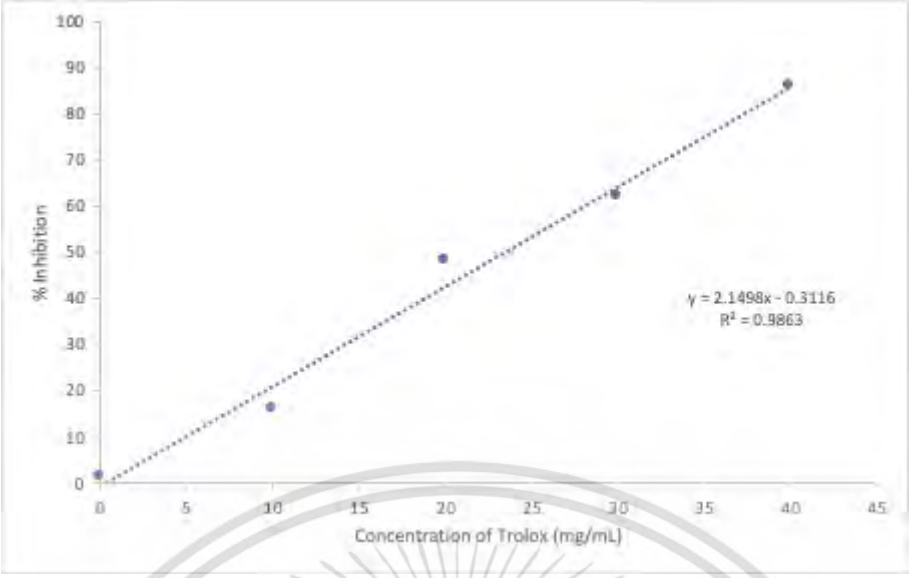
ชั่งสารมาตราฐานโทรลอกซ์ (Trolox) 2 มิลลิกรัมละลายในเมทานอลและปรับปริมาตรด้วยเมทานอลในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร สารละลายที่ได้คือสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่มีความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ที่มีความเข้มข้น 0 10 20 30 และ 40 มิลลิกรัมกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายมาตรฐาน 60 µL ในแต่ละ ความเข้มข้น ใส่ลงในหลุมทดลอง 3 หลุมใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย DPPH radical 0.16mM ลงไป 140 µL ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Microplate reader ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้ในแต่ละความเข้มข้นหาค่าเฉลี่ยแล้วนำมาคำนวณ %Scavenging activity

ตารางที่ ข.1 การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และ%Scavenging activity ของสารละลายมาตรฐาน Trolox

Trolox (mg/mL)	Absorbance						ค่าเฉลี่ย	% Inhibition
	1.1	1.2	1.3	2.1	2.2	2.3		
0	0.809	0.821	0.837	0.836	0.837	0.850	0.832	1
10	0.680	0.660	0.655	0.698	0.701	0.691	0.681	16
20	0.440	0.419	0.449	0.485	0.452	0.461	0.451	48
30	0.308	0.290	0.254	0.459	0.323	0.332	0.328	62
40	0.175	0.175	0.087	0.086	0.142	0.093	0.126	86

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ ข.1 ของสารละลายมาตรฐาน Trolox มาสร้างกราฟความสัมพันธ์เส้นตรงระหว่าง %Scavenging activity กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันเพื่อหา IC_{50} พบว่า สารละลานมาตรฐาน Trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ 25 mg/ml ดังภาพที่ ข.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข.2 ความสัมพันธ์ที่เป็นเส้นตรงความเข้มข่นของสารละลายมาตรฐาน Trolox กับ %Scavenging activity

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	จิตตกาญจน์ น้อยสถิตย์
วัน เดือน ปี เกิด	31 พฤษภาคม พ.ศ. 2544
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษา โรงเรียนพรตพิทยพยัต จังหวัดกรุงเทพมหานคร
	ปริญญาตรี คณะอุตสาหกรรมอาหาร
	สาขา เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-นามสกุล	ธิญาดา พีรวณิชกุล
วัน เดือน ปี เกิด	13 พฤษภาคม พ.ศ. 2543
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษา โรงเรียนพรตพิทยพยัต จังหวัดกรุงเทพมหานคร
	ปริญญาตรี คณะอุตสาหกรรมอาหาร
	สาขา เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้