ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง ... การหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมในถาด

(Tempeh with Bacterial Co-Fermentation : Tray Fermentation)

โดย ... นางสาวจันทนา จินดา

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก...

....1...4...34 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร.อรวรรณ ศรี)

..... 9..4..34 กรรมการของภาควิชา

(ผ.ศ.ดร.พ.)

....1...4...34 กรรมการของภาควิชา

(ผส.รุ่งรัตน์)

ภาควิชาวิศวกรรมเกษตร

24 S.A. 256

หัวหน้าภาควิชาวิศวกรรมเกษตร

วันที่ 9 เดือน ...4... ... พ.ศ. 34..

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
พ.ศ. ๒๕๒๖
2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14080

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T097011

ปัญหาพิเศษ (45499)

เรื่อง

การหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมในถาด

(Tempeh with Bacterial Co-Fermentation:Tray Fermentation)

โดย

นางสาวจันทนา จินดา

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

ปีการศึกษา 2533

ปพ.
จ246ก
2533

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....97011
วัน,เดือน,ปี.....5 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษเรื่องนี้สำเร็จลงได้โดยได้ได้รับคำแนะนำและความช่วยเหลือจากอาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ และอาจารย์ศรีสกุล วรจันทรา ซึ่งเป็นอาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ที่ให้ความกรุณาอนุญาตให้ใช้เครื่องมือวิเคราะห์หาโปรตีนของภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ รวมทั้งเจ้าหน้าที่โรงเรียนสตรีศรีสุริโยทัย ที่อนุญาตให้ใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ในการพิมพ์รายงานฉบับนี้ รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆและทุกท่าน ที่ให้กำลังใจ และมีส่วนช่วยให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

จึงใคร่ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง ไว้ ณ ที่นี้

จันทนา จินดา

10/2/34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมในถาด

(Tempeh with Bacterial Co-Fermentation : Tray Fermentations)

สภาพที่เหมาะสมในการหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii นั้น พบว่าชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. มีความเหมาะสมต่อการหมักมากที่สุด และเมื่อทดสอบการให้อากาศที่ผิวหน้าของถั่วเหลืองในระหว่างการหมักโดยการปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรูและไม่เจาะรู พบว่า ถาดที่ปิดด้วยกระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรูมีการเจริญเติบโตของเชื้อรา Rhizopus oligosporus ดีกว่าถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรู สำหรับความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii ที่เหมาะสมในการหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมคือความเข้มข้น 40 มล.ต่อถาด(1,400 กรัมถั่วเหลืองที่ผ่านขั้นตอนการเตรียม) ระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสมคือ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35° ซ.

ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่ได้จากการหมักในสภาพที่เหมาะสมต่อการหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และ เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermaniiในถาด ประกอบด้วย โปรตีน 13.97 %, ไขมัน 20.60 % , คาร์โบไฮเดรท 18.04 %, เส้นใย 6.75 % , แร่ธาตุ 3.85 % , ความชื้น 6.79 % , อมิโน-ไนโตรเจน(amino-nitrogen) 227.8 มก./100 กรัม และวิตามินบี12 297.5 นก./100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ข
สารบัญตาราง ภาคผนวก	ค
บทนำ	ง
วัตถุประสงค์	จ
การตรวจเอกสาร	1
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลการทดลองและวิจารณ์	25
สรุปผลการทดลอง	37
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก ก	40
ภาคผนวก ข	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ปริมาณของวิตามินบีรวมที่พบในเทมเป้ 100 กรัมและในถั่วเหลืองที่ยังไม่ได้หมัก	3
2. ผลของความหนาของถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์เจาะรูต่อการเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดและพีเอชของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง	25
3. ผลของความหนาของถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ไม่เจาะรูต่อการเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดและพีเอช ของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง	26
4. ผลของการให้อากาศบนผิวของถั่วเหลืองหมักในถาดต่อการเปลี่ยนแปลงคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรดและพีเอชของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง	29
5. ผลของความเข้มข้นของ Propionibacterium shermanii 1250 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และพีเอช ในเทมเป้ที่ผลิตในถาดในสภาพการหมักที่เหมาะสม	32
6. ผลของการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในถาดในช่วงเวลาต่าง ๆ ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และพีเอช	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สงผลประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่หมักด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา 37
Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย
Propionibacterium shermanii 1250 ในถาด ในสภาพ
ที่เหมาะสมที่ 24 ชั่วโมง (เปอร์เซนต์โดยน้ำหนักแห้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1.	โครงสร้างของ Rhizopus oligosporus	10
2.	ขั้นตอนการเตรียมเทมเป้แบบดั้งเดิม	17
3.	คุปกรณ์และขั้นตอนการเตรียมเทมเป้	21
4.	แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตเทมเป้จากเชื้อผสมของเชื้อ Rhizopus oligosporus และ Propionibacterium shermanii 1250	22
5.	ลักษณะการควบคุมการให้ก๊าซของถั่วเหลืองหมักในถาดด้วยการปิดผิวหน้าถั่วเหลืองด้วยกระดาษฟลอล์เจาะรู(P) และไม่เจาะรู (NP)	27
6.	ลักษณะการเจริญของเชื้อรา Rhizopus oligosporus ในเทมเป้ที่ผลิตในถาดปิดด้วยกระดาษฟลอล์เจาะรู (P) และไม่เจาะรู(NP)	30
7.	กราฟแสดงปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เส้นใย และคาร์โบไฮเดรตในเทมเป้ที่ผลิตด้วยเชื้อผสม Rhizopus oligosporus และPropionibacterium shermanii 1250 ที่เวลาต่าง ๆ	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางที่	หน้า
1. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	46
2. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	46
3. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณความเป็นกรด (Acidity) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	47
4. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่ไม่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	47
5. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่ไม่เจาะรูที่ค่าต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	48
6. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟิลเตอร์ที่ไม่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณกรด (Acidity) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด	48
7. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟิลเตอร์เจาะรูและไม่เจาะรูที่ใช้ปิดทับชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด	49
8. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟิลเตอร์ที่เจาะรูและไม่เจาะรูที่ใช้ปิดทับชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีค่าต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟอลล์ที่เจาะรูและไม่เจาะรูของชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีค่าต่อความเป็นกรด (acidity) ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด 50

10. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ Propionbacterium sherwanii ที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด 50

11. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ Propionbacterium sherwanii ที่มีต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด 51

12. การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาดที่มีต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

เรื่อง
การหมักเทมเป้ด้วยเชื้อผสมในถาด
(Tempeh with Bacterial Co-Fermentation:Tray Fermentation)

เทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านของชาวอินโดนีเซีย ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา โดยเฉพาะเชื้อราในจีนัส Rhizopus เช่น Rhizopus oligosporus จนกระทั่งถั่วเหลืองถูกปกคลุมด้วยเส้นใยสีขาวของเชื้อราจนจับตัวกันเป็นก้อน (วราวุฒิ,2530) การทำเทมเป้ด้วยวิธีพื้นบ้านของชาวอินโดนีเซียนั้นจะคลุกถั่วเหลืองที่แช่น้ำค้างคืนไว้และแยกเปลือกออก แล้วผึ่งให้แห้ง ถ่ายเชื้อจากเทมเป้ที่ได้จากการผลิตครั้งก่อน คลุกให้ทั่ว แล้วจึงห่อด้วยใบตองก่อนจะนำไปบ่ม ซึ่งวิธีนี้จะได้เทมเป้ที่มีคุณภาพไม่ดีนัก เนื่องจากขาดการควบคุมชนิดของเชื้อราและการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอก (Martinelli et al., 1964) จึงได้มีการใช้เชื้อรา Rhizopus บริสุทธิ์ในการทำเทมเป้ แต่พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเทมเป้ที่ได้จากวิธีดั้งเดิมของชาวอินโดนีเซียแล้ว วิธีดั้งเดิมจะให้เทมเป้ที่มีลักษณะบางอย่าง เช่น กลิ่น , สี และอายุการเก็บรักษาดีกว่าเทมเป้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อรา Rhizopus บริสุทธิ์ เนื่องจากเป็นเทมเป้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อรากับจุลินทรีย์ภายนอก ดังนั้นจึงได้มีการศึกษาหาเชื้อบริสุทธิ์ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไปมาทำการหมักร่วมกันเพื่อให้ได้เทมเป้ที่มีลักษณะที่ดีและมีองค์ประกอบทางเคมีตามต้องการ หัวเชื้อผสมที่ใช้นี้เรียกว่า mixed pure culture (Shurtleff and Aoyagi,1979) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii มาหมักเทมเป้ร่วมกับเชื้อรา Rhizopus oligosporus เพื่อให้มีการสร้างวิตามินบี 12

จากการผลิตเทมเป้โดยการห่อด้วยใบตอง ได้มีการพัฒนามาผลิตในถุงพลาสติก หลอดเซลโลเฟน ถาดไม้ ถาดพลาสติก และถาดโลหะขนาดต่างๆ เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตให้มากขึ้นในระดับอุตสาหกรรม ทั้งนี้เนื่องจากเทมเป้เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและสามารถบริโภคได้ในหลายๆลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น เป็นอาหารว่าง (snack) ผงเทมเป้ใช้ผสมในผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยแป้งสาลีเช่น แพนเค้ก ขนมปัง เป็นต้น หรือใช้เป็นส่วนผสมในซุป การผลิตจะอยู่ในรูปของการบรรจุมูงหรือบรรจุกระป๋องซึ่งสะดวกต่อผู้บริโภค

อย่างไรก็ตามการผลิตเทมเป้โดยการหมักด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii ในอาจจำเป็นต้องทราบสภาพที่เหมาะสมในการหมักเพื่อให้ได้เทมเป้ที่มีคุณภาพดี และมีองค์ประกอบทางเคมีตามต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาพที่เหมาะสมที่มีผลต่อการหมักเทมเป้ด้วยหัวเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และ เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii ในถาด

2. วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่ได้จากการหมักด้วยหัวเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และ เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

เทมเป้ (Tempeh)

เทมเป้ (Tempeh หรือ Tempe) เป็นอาหารพื้นบ้านที่นิยมกันมากของชาวอินโดนีเซียได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อราในจีนัส(Genus) Rhizopus จนกระทั่งถั่วเหลืองจับกันเป็นก้อนและมีเส้นใยสีขาวปกคลุมอย่างหนาแน่น (Shurtleff and Aoyagi,1979) เทมเป้ที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองเรียกว่า Tempeh kedelee นอกจากนี้ยังสามารถใช้วัตถุดิบอื่นๆในการหมักเช่น ถั่วลิสง ถั่วเขียว กากถั่วเหลือง กากถั่วเขียวและพืชอื่นๆอีกหลายชนิด ซึ่งเรียกอาหารหมักเหล่านี้ว่า ผลิตภัณฑ์เอนกแบบเทมเป้ (ลาวัฒน์,2519 ; Besselline,1965)

แม้ว่าถั่วเหลืองจะมีโปรตีนและสารอาหารอื่นๆสูง แต่มีโปรตีนและสารอาหารบางชนิดเท่านั้นที่ร่างกายนำไปใช้ได้ถ้าถั่วเหลืองนั้นผ่านความร้อนมาแล้ว แต่ถั่วเหลืองที่ผ่านในระหว่างการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อรา Rhizopus oligosporus จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในถั่วเหลืองทำให้คุณภาพของโปรตีนในถั่วเหลืองดีขึ้น โดยจุลินทรีย์จะไปทำลายกลิ่น รส หรือเอนไซม์ที่ไม่ต้องการ และยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ (nutritional value) ความสามารถในการย่อย (digestibility) และลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ให้สูงขึ้นด้วย (วราวุฒิ,2530)

ประโยชน์ของเทมเป้

1.โปรตีนของเทมเป้มีคุณภาพสูง (rich in high-qulity protein)

เทมเป้และอาหารอื่นๆที่ผลิตจากถั่วเหลืองมีเปอร์เซนต์โปรตีนสูงกว่าเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์นมคุณภาพโปรตีนที่สูงขึ้นนั้น เนื่องจากเทมเป้มีสัมประสิทธิ์ของความสามารถในการย่อย (digestibility coefficient) สูงขึ้น ร่างกายจึงสามารถย่อยโปรตีนได้ดี เพราะในระหว่างการหมักและในขั้นตอนการเตรียมเทมเป้ สารต่อต้านทางโภชนาการต่างๆ เช่น soybean trypsin inhibitors (SBTI) ,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AEY5 2 29.

amylase inhibitors , hemagglutinins , saponins และ สารพวกที่ไม่ใช่โปรตีน ได้ถูกทำลายโดยความร้อนและเอนไซม์ต่างๆที่ได้จากเชื้อรา R. oligosporus ความร้อนที่ใช้ในการทำลายสารยับยั้งเอนไซม์เหล่านี้ยังช่วยเพิ่มกรดอมิโน ซึ่งได้จากการสลายตัวของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินด้วย (ศุภร, 2532 ; วรรณดี,2529 ; สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร,2527)

นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เนื่องจากเอนไซม์จากเชื้อรา เช่น การเปลี่ยนแปลงของผนังเซล โปรตีน และไขมัน มีส่วนทำให้การย่อย cotyledon สูงขึ้นอย่างมาก และในระหว่างการหมักเทมเป้จะมีการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบทางเคมีเกิดขึ้นซึ่งรวมถึงการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนลิสระด้วย (Murata et al.,1967)

เทมเป้มีกรดอมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) ครบทั้ง 8 ตัว (10 ตัวถ้ารวม cystine และ tyrosine) จึงจัดเป็นอาหารที่เรียกว่า complete protein และมีกรดอะมิโนไลซีนสูงจึงสามารถนำถั่วเหลืองผสมกับธัญพืชอื่นๆหมักเป็นเทมเป้ เรียกว่า Mixed Tempeh เพื่อเพิ่มปริมาณไลซีนในเมล็ดธัญพืชให้สูงขึ้นด้วย (วราวุฒิ,2530)

2.เทมเป้มีปริมาณไขมันต่ำ (low in saturated fats) และเป็นตัวลดคลอเลสเตอรอล (cholesterol reducer)

เทมเป้มี lecithin ซึ่งจะรวมตัวกับ essential polyunsaturated fatty acid เช่น linoleic acid และ linolenic acid ในปริมาณมากโดยทำหน้าที่เป็น emulsifier และช่วยกำจัดการสะสมคลอเลสเตอรอลและกรดไขมันชนิดอื่นๆ ตามอวัยวะและกระแสโลหิต (ศุภร,2530) นอกจากนี้การแช่ถั่วเหลืองก่อนการหมักเทมเป้ยังเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณไขมันลดลงโดยจะลดลงประมาณ 2.5 % เมื่อแช่ถั่วเหลืองที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ในระหว่างการหมักเชื้อรา R. oligosporus ได้สร้างเอนไซม์ไลเปสออกมาย่อยไขมัน ทำให้กรดไขมันหลุดจากโมเลกุลของกลีเซอรอล ทำให้กรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้การเจริญของแบคทีเรียในเทมเป้เจริญได้ดีและจะเป็นตัวช่วยย่อยกรดไขมันต่อไป แม้การหมักจนอยู่ในช่วงปลายหรือช่วง Deterioration phase ซึ่งช่วงนี้เชื้อราจะไม่เจริญก็ตาม (Shurtleff and Aoyagi,1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เทมเป้เป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ (a good soure of vitamins and minerals)

เทมเป้เป็นแหล่งวิตามินบี 12 จึงสามารถทำเทมเป้โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี 12 ได้ นอกจากวิตามินบี12 แล้วเทมเป้ยังมีวิตามินเอ วิตามินบี 1 วิตามินบี 6 ไนอาซิน และไทโลติน ดังแสดงในตารางที่

ตารางที่ 1 ปริมาณของวิตามินที่รวมที่พบในเทมเป้ 100 กรัม และในถั่วเหลืองที่ยังไม่หมัก

vitamins	soybean (100 g)	tempeh (100 g)	increase (times)
Thiamine (B1)	0.48 mg.	0.28 mg.	-0.58
Riboflavin (B2)	0.15 mg.	0.65 mg.	4.40
Nitotinic acid (Niacin)	0.67 mg.	2.52 mg.	3.80
Panthenic acid	430 meg.	520 meg.	1.10
Pyridoxine (B6)	180 meg.	830 meg.	4.60
Folacin (folic acid)	25 meg.	100 meg.	4.00
Cyanocobalamin (B12)	0.15 mmeg.	3.9 meg.	26,000
Biotin	35 meg.	53 meg.	1.50

ที่มา : Shurtleff and Aoyagi (1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ Murata et. al.(1967) พบว่าปริมาณ thiamine จะเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการหมัก (24 ชั่วโมง) จากนั้นปริมาณจะลดลงเรื่อยๆ แต่ปริมาณที่มีในเทมเป้ยังคงใกล้เคียงที่มีในถั่วเหลืองที่ยังไม่หมัก ส่วน riboflavin วิตามินบี 6 nicotinic acid และ pantothenic acid จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างการหมักถึง 2-6 เท่าของถั่วเหลืองที่ยังไม่หมัก

เกลือแร่ที่มีในเทมเป้ได้แก่ แคลเซียม (Ca), ฟลูออไรด์ (F), เหล็ก (Fe) และแมงกานีส (Mn) เป็นต้น ปริมาณของเกลือแร่ในเทมเป้จะลดลง (วราวุฒิ,2530) เนื่องจากเชื้อรา Rhizopus สร้างเอนไซม์ไฟเตส (phytase enzyme) ออกมาย่อย phytate ซึ่งเป็น chelating agent ในถั่วเหลืองทำให้เกลือแร่ต่างๆถูกนำออกมาใช้ประโยชน์ได้ (Shurtleff and Aoyagi,1979)

4.เทมเป้มีเส้นใยมาก (fiber) และช่วยในการย่อย (digestibility)

เส้นใยจะช่วยกระตุ้นและทำความสะอาดทางเดินอาหารโดยเฉพาะลำไส้เล็กทำให้ระบบการย่อยอาหารดำเนินได้ดีตามปกติ จากการศึกษาพบว่าในระหว่างการหมักปริมาณเส้นใยในเทมเป้จะสูงขึ้นเนื่องจากการเพิ่มปริมาณเส้นใยของเชื้อรา R. oligosporus ที่เจริญอย่างรวดเร็วและจากการสูญเสียของแข็งอื่นๆ ซึ่งทำให้สัดส่วนของปริมาณเส้นใยเพิ่มขึ้นด้วย

นอกจากเส้นใยจะช่วยให้ระบบย่อยอาหารดำเนินตามปกติแล้ว เทมเป้ซึ่งเมล็ดถั่วเหลืองจะมีลักษณะนิ่มเนื่องจากการหมัก และการลดลงของปริมาณ digosaccharide ก็ทำให้เทมเป้ถูกย่อยได้ดีและไม่มีอาการลมในท้องในผู้บริโภค ดังนั้นเทมเป้จึงเหมาะกับผู้ที่ย่อยอาหารยากเช่น ผู้ป่วยโรคบิด (dysentery) และ Nutritional edema (ศุภร,2532 ; Shurtleff and Aoyagi,1979)

5.เทมเป้มีสาร anti-oxidant

สาร anti-oxidant ที่มีในเทมเป้ เช่น Daizein (7,4'dihydroxyisoflavone), Genistein (5,7,4'trihydroxyisoflavone) และ แฟคเตอร์ (2'6,77,4'trihydroxyiso - flavone) สารเหล่านี้เป็นพวก isoflavone และสารประกอบ Phenolic ซึ่งได้จากเชื้อราระหว่างการหมัก สาร anti-oxidant จะเป็นตัวป้องกันการเปลี่ยนแปลงของวิตามินอีในผลิตภัณฑ์ ทำให้เก็บรัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

flavone) สารเหล่านี้เป็นพวก isoflavone และสารประกอบ Phenolic ซึ่งได้จากเชื้อราระหว่างการหมัก สาร anti-oxidant จะเป็นตัวป้องกันการเปลี่ยนแปลงของวิตามินอีในผลิตภัณฑ์ ทำให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้เป็นเวลานานโดยปราศจากกลิ่นหืน จากการศึกษาพบว่าผงเทมเป้ที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิห้องมีกลิ่นหืนช้ากว่าผลิตภัณฑ์แป้งถั่วเหลืองที่เก็บในสภาพเดียวกัน (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร,2527 ; วรรณี,2529) และ เทมเป้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีค่าเพอร์ออกไซด์ (peroxide value) อยู่ในช่วง 0-1.1 ในขณะที่ถั่วเหลืองที่ยังไม่หมักมีค่านี้อยู่ในช่วง 18.3-201.9 ดังนั้นจึงเติมน้ำมันที่สกัดได้จากเทมเป้ลงในน้ำมันพืชอื่นๆ ได้ (Shurtleff and Aoyagi,1979) แต่อย่างไรก็ตาม สาร anti-oxidant จะทำงานได้ดีในเทมเป้ที่ถูกทำให้แห้งแล้วเท่านั้น ส่วนในเทมเป้สดที่เก็บที่อุณหภูมิห้อง สาร anti-oxidant นี้จะมีผลในการเก็บรักษาคุณภาพอาหารได้เพียงเล็กน้อย (Murata et al.,1967)

6. เทมเป้มีสารปฏิชีวนะ (antibiotic)

เชื้อรา R. oligosporus สามารถผลิต heat-stable antibacterial agents ซึ่งทำหน้าที่คล้ายกับสารปฏิชีวนะเช่น เพนนิซิลิน เป็นต้น มีผลทำให้มีการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียแกรมบวก (วราวุฒิ,2530)

7. เทมเป้ปราศจากสารพิษตกค้าง (free of chemical toxins)

เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อ ปลา และสัตว์ปีก พบว่าอาซ่าแมลงติดอยู่กับเนื้อเชื้อสูงกว่าในเมล็ดถึง 20 เท่า ส่วนในอาหารนมก็พบมากกว่า 4.5 เท่า นอกจากอาซ่าแมลงที่ติดกับเนื้อเชื้อสัตว์แล้ว ยังสารพวกโลหะหนักติดมาด้วย แต่ในเทมเป้ที่บริโภคพบว่าปราศจากสารพิษที่จะเป็นอันตราย นอกจากนี้ยังไม่พบสารพิษ aflatoxin จากเชื้อรา Aspergillus flavus เนื่องจากจะถูกทำลายโดยความร้อนและโดยกิจกรรมต่าง ๆ ของเชื้อรา R. oligosporus จนเชื้อรา A. flavus ไม่สามารถเจริญได้

ในปัจจุบันเทมเป้เป็นที่นิยมทั้งในอเมริกา ยุโรป และญี่ปุ่น เนื่องจากสามารถนำไปประกอบเป็นอาหารหรือผสมในอาหารชนิดต่างๆ ใช้แทนเนื้อสัตว์ได้จึงเหมาะกับผู้บริโภคมังสวิรัติ นอกจากนี้ยังทำเป็นอาหารว่างประเภท snack food ได้อีกด้วย (วราวุฒิ,2530;Shurtleff and Aoyagi,1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเหลือง (Soybean)

เป็นพืชตระกูลถั่ว มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า "Glycine Max(L) merrill" ในตระกูลของ Leguminosae , Subfamily : papilinodeae

ถั่วเหลืองมีอยู่หลายสายพันธุ์ มีลักษณะสีเปลือกต่างกันไป ทำให้มีการนำไปใช้ประโยชน์ต่างกันด้วย เช่นเปลือกสีดำใช้ในการสกัดน้ำมัน สีเหลืองใช้ในอุตสาหกรรมทั่วไป ส่วนสีเขียวและสีน้ำตาลไม่นิยมนำมาใช้

ลักษณะโครงสร้างและลักษณะทั่วไปของเมล็ดถั่วเหลือง

เมล็ดถั่วเหลืองมีลักษณะกลมรี น้ำหนักประมาณ 90-200 มก. เส้นผ่าศูนย์กลางของเมล็ดด้านยาวประมาณ 0.6-0.9 ซม. และเส้นผ่าศูนย์กลางด้านสั้นประมาณ 0.5-0.7 ซม. ในเมล็ดมีส่วนประกอบ 3 ส่วน คือ

1.ส่วนเปลือก (hulls) มีประมาณ 7 % โดยน้ำหนัก

2.ส่วนของใบเลี้ยง (cotyledon) มีประมาณ 90 % โดยน้ำหนัก

3.ส่วนของหลดล่อน (hypocotyl and plumete) มีประมาณ 3 % โดยน้ำหนัก

ส่วนประกอบทางเคมี

เมล็ดถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนและไขมันจากพืชที่มากที่สุดแหล่งหนึ่ง ซึ่งส่วนประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง มีดังต่อไปนี้

1.ไขมัน มีปริมาณรองจากโปรตีน มีประมาณ 16-18 % มีอัตราส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัวค่อนข้างคงที่คือประมาณ 15:58 และในกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีไขมันชนิดที่ดีและมีประโยชน์ต่อการบริโภค (essential fully acid) ประมาณ 30-40 % นอกจากนี้ยังมีสารพวก phospho-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

lipids หรือ phospholides เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยโดยอยู่ในรูป lecithin หรือ cephalin ซึ่งคุณสมบัติของ phospholipids จะมีผลในด้านการ emulsifying ที่ดี

2.คาร์โบไฮเดรต ในถั่วเหลืองแบ่งได้ 2 ประเภทคือ

2.1 คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (water soluble carbohydrates) ส่วนใหญ่ได้แก่ disaccharide, trisaccharide และ tetrasaccharide โดยจะพบในรูปของแป้ง (starch) ในถั่วเหลืองเมล็ดแก่ แต่จะพบในรูปของน้ำตาล monosaccharide และน้ำตาลรีดิวซ์อื่น ๆ ในเมล็ดถั่วเหลืองที่อ่อนอยู่

2.2 คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ (water insoluble carbohydrate of cotyledons) อยู่ในใบเลี้ยง เป็นสารที่มีโครงสร้างโมเลกุลซับซ้อน ได้แก่ arabinan , arabinogalactan เป็นส่วนใหญ่ และอาจรวมถึงสารพวก pectic ด้วย

ในส่วนของเปลือกส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยเส้นใย (fiber) ถึงครึ่งหนึ่งของปริมาณเปลือกทั้งหมด

3.โปรตีน เป็นสารอาหารหลักในถั่วเหลือง โดยสะสมในเซลเนื้อถั่วเหลืองที่เรียกว่า protein bodies หรือ storage protein โปรตีนในถั่วเหลืองมีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและทางเคมี เช่น แรงสั่น ความร้อน สภาพเป็นกรด-ด่าง หรือสารเคมีอื่น ๆ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในถั่วเหลือง เช่น ขนาดของโมเลกุลโปรตีนเปลี่ยนไป หรือมีความหนืดเพิ่มขึ้น เป็นต้น โปรตีนส่วนใหญ่เป็นประเภท globulin ซึ่งมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำที่ pH 4.2-4.6

4.เถ้าและแร่ธาตุ ส่วนใหญ่ ได้แก่ โปแตสเซียม (K) 1.83 % , ฟอสฟอรัส (P) 0.78 % , แมกนีเซียม (Mg) 0.31 % , โซเดียม (Na) 0.24 % , แคลเซียม (Ca) 0.24 % และซัลเฟอร์ (S) 0.24 %

ฟอสฟอรัสที่พบจะอยู่ในรูปของ inorganic phosphorus เช่น phytin ,phospholipids ต่างๆ และ nucleic acid ส่วนแร่ธาตุอื่น ๆ เช่น คลอไรด์ โบรอน แมงกานีส เหล็ก ทองแดง แคโรีน และสังกะสี พบในปริมาณน้อยมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. วิตามิน ถั่วเหลืองเป็นแหล่งวิตามินบีรวมค่อนข้างสูง โดยมีปริมาณของ β-carotene ประมาณ 2-7 มก./กรัม แต่ถ้าถั่วเหลืองแก่ขึ้นปริมาณจะลดลงเหลือเพียง 0.2-2.4 ไมโครกรัม ต่อกรัม ซึ่งอาจเกิดขึ้นเนื่องจากแคโรทีนถูกเอนไซม์ไลปอกซิเดส (lipoxidase enzyme) ออกซิไดซ์ให้เปลี่ยนสภาพไป

จะเห็นว่าถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงมีบทบาททางโภชนาการมากขึ้น และแม้ว่าถั่วเหลืองมีโปรตีนที่คุณภาพไม่สมบูรณ์ เนื่องจากมี methionine และ cystine น้อย แต่มีlysine สูง ดังนั้นถ้าบริโภคถั่วเหลืองร่วมกับอาหารอื่นที่มี lysine ต่ำ แต่มี methionine และ cystine สูง ร่างกายก็จะได้รับโปรตีนครบถ้วน (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร, 2527)

ถั่วเหลืองถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ดังนี้

1. ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านการหมัก (non-fermented soybean products) เช่น น้ำมันถั่วเหลือง นมถั่วเหลือง เต้าหู้ ฟองเต้าหู้ ฯลฯ

2. ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมัก (fermented soybean products) ได้แก่ ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว ซอสปรุงรส นัทโตะ เทมเป้ ฯลฯ (สมชาย, 2532)

ถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากเป็นการถนอมอาหารแล้ว ยังทำให้สี เนื้อสัมผัส กลิ่น-รส และมีคุณสมบัติการละลายที่ดี อาหารจะถูกย่อยได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารและลด หรือกำจัดสารพิษได้อีกด้วย (วรรณดี, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักเทมเป้

เชื้อรา : Rhizopus oligosporus

Rhizopus พบได้ทั่วไปในธรรมชาติเจริญทั้งในดิน ผลไม้ อาหารและสารต่างๆ ที่เน่าเปื่อยได้ สปอร์ของ Rhizopus มีน้ำหนักเบา เจริญได้รวดเร็วในสภาพที่ชุ่มชื้น Rhizopus อยู่ใน order Mucorale ซึ่งเป็นออร์เดอร์ที่เหมาะกับการนำไปใช้ในกระบวนการหมัก เนื่องจากสามารถเจริญได้รวดเร็วมาก มีการสร้างเอนไซม์ที่สมบูรณ์ มีการสร้างกลิ่น-รสให้กับอาหารได้

เชื้อ Rhizopus ที่ใช้ในการผลิตเทมเป้คือ R. oligosporus ซึ่งอยู่ใน

Kingdom : Fungi

Division : Mycota

Class : Zygomycetes

Order : Mucorales

Family : Mucoraceae

Genus : Rhizopus

Species : oligosporus

ลักษณะเฉพาะของ R. oligosporus

1. เส้นใยไม่มีผนังกั้น (non-septate hyphae) มีลักษณะคล้ายปุยฝ้ายสีขาวแผ่กระจายเต็มภาชนะ

2. มีสโตลลน (stolon) ซึ่งเป็นเส้นใยชนิดหนึ่งที่เจริญขึ้นทางด้านบนและด้านข้าง ที่ปลายด้านล่างของสโตลลนจะมีส่วนคล้ายรากเรียกว่า rhizoid ยึดเกาะกับสารอาหาร (substrate)ที่มีผิวแห้ง ซึ่งจะเกาะอาหารอย่างหนาแน่นและแข็งแรงมาก สโตลลนจะช่วยให้การขยายเส้นใยรวดเร็วขึ้น

3. มี sporangiophores ตรงข้อ (node) เดียวกัน rhizoid ที่ปลายด้านบนของ sporangiophores มี columnella ซึ่งมีรูปร่างครึ่งวงกลม (bowl-shaped) ส่วนฐานของ colum-

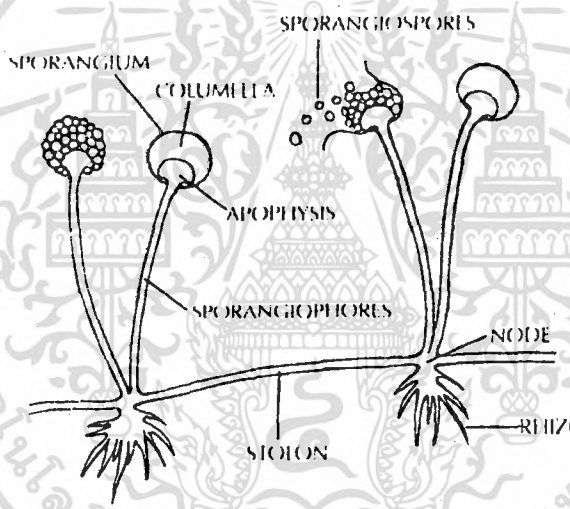
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

nella มีรูปร่างคล้ายถ้วย (cup-shaped) ที่เรียกว่า apophysis ทั้ง columnella และ apophysis จะช่วยพยุงและให้ความแข็งแรงแก่ sporangium

4. สปอร์มีขนาดเล็ก มีสีดำ เจริญใน sporangium สปอร์ต้องอาศัยพาหะในการเคลื่อนที่ เรียกว่า aplanospores

5. sporangia มีขนาดเล็ก และมีการสร้าง chlamydospores เป็นจำนวนมาก

ลักษณะของ R. oligosporus แสดงดังในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ Rhizopus oligosporus

ที่มา : Shurtleff and Aoyagi (1979)

R. oligosporus เป็นเชื้อราที่นิยมใช้ผลิตเทมเป้ทั่วไปในประเทศอินโดนีเซีย อเมริกาเหนือ และ ประเทศยุโรป R. oligosporus มีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส (lipase) และเอนไซม์โปรติเอส (protease) จึงมีการย่อยไขมันและโปรตีนในถั่วเหลือง ปริมาณไขมันในเทมเป้จึงลดลง และร่างกายสามารถนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น นอกจากนี้เอนไซม์ทั้งสองยังรวมตัวกับเอนไซม์อไมเลส (amylase) เชื้อก็สามารถผลิตเทมเป้จากเมล็ดธัญพืชหรือเทมเป้ที่ผสมระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถั่วเหลืองกับเมล็ดธัญพืชอื่น ๆ (mixed Tempeh)

แหล่งพลังงานของ R. oligosporus แหล่งแรกก็คือ lipid material และมี glucose , frutose , galactose ยกเว้น raffinose เป็นแหล่งคาร์บอน ไนโตรเจนจะได้จาก ammonium salt เช่น $NH_4(OH)$ และ amino acids บางตัว เช่น proline , glycine aspartic acid , leucine เป็นต้น (ศุภร,2532 ; Hesseltine,1965)

การเจริญเติบโตของ Rhizopus oligosporus

R. oligosporus มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ มีการสร้าง chlamydospores ซึ่งมีผนังหนา และจำนวนมาก เมื่อสปอร์แตกสปอร์จะฟุ้งกระจายปลิวไปตามลมหรือติดไปกับพาหะต่าง ๆ เช่น แมลง นก ฯลฯ การเจริญเติบโตต้องการอากาศ และต้องมีอุณหภูมิประมาณ 25-37 ° ซ. ความชื้น 40-55 % สภาพความเป็นกรดเล็กน้อย และอาหารเพียงพอต่อการเจริญเติบโต

สปอร์เจริญรวดเร็วมาก โดยการขยายขนาดของเซลจนกระทั่งยืดยาวเป็นเส้นใยพันกันคล้ายเส้นด้ายพันกันแน่น เส้นใยมีสีขาวคล้ายปุยฝ้าย เจริญลุกทั้งทางด้านบนและด้านล่าง ส่วนของการเจริญของเส้นใยเรียกว่า vegetative groeth m

โดยปกติการหมักเทมเป้จะเสร็จสิ้นเมื่อเส้นใยของเชื้อราปกคลุมถั่วเหลืองเป็นก้อนแน่นและมีสีขาวของเส้นใย แต่ถ้าปล่อยให้การหมักยาวนานออกไปจะมีการสร้าง sporangiophores และภายใน 2-3 ชั่วโมง สปอร์จะแก่จัด มีสีดำ ทำให้ผิวหน้าเทมเป้มีสีเข้มขึ้น ซึ่งทั้งสโตลอนและไรซอยด์ก็มีสีเข้มขึ้นด้วย (Shurtleff and Aoyagi,1979)

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus

ประกอบด้วย (Shurtleff and Aoyagi,1979)

1.ออกซิเจน (oxygen) เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับเชื้อรา Rhizopus เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ต้องการมากกว่า ปริมาณของออกซิเจนฝนการหมักต้องเพียงพอ ถ้ามีปริมาณออกซิเจนน้อย การเจริญของเชื้อราจะหยุดชงักทำให้ได้เทมเป้คุณภาพต่ำ ในขณะเดียวกันถ้าปริมาณออกซิเจนมากเกินไปเชื้อราจะเจริญอย่างรวดเร็วและมีเมตาโบลิซึม (metabolism) สูง ทำให้ความร้อนในการหมักสูงขึ้นจนเป็นอันตรายต่อการเจริญของเชื้อราได้ |

2.ความชื้น (moisture) เชื้อรา R. oligosporus เจริญได้ดีที่ความชื้น 40-50 % (หลังจากผ่านความร้อนแล้ว)

3.อุณหภูมิและเวลา (temperature and time) เชื้อราในการผลิตเทมเป้เจริญได้ดีที่สุดที่สุดที่อุณหภูมิ 30-37 ° ซ. เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง

4.สารอาหาร (nutrient utilization) เชื้อราจะได้อาหารโดยการย่อยสลายอาหารที่ถูกเกาะด้วยเอนไซม์ให้มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งได้แก่อาหารพวกโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เพื่อที่จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโต และกิจกรรมของเซล

5.การปะปนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ (contaminate) โดยเฉพาะแบคทีเรีย ซึ่งจะทำให้สภาพความเป็นกรดสูง ทำให้การเจริญของเชื้อราไม่ดีเท่าที่ควรที่

เชื้อแบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี 12

Propionibacterium freudenreichii sub. sp. shermanii

เป็นแบคทีเรียที่อยู่ใน

Order : Eubacteriales

Family : Propionibacteriaceae

Genus : Proionibacterium

Species : freudenreichii

Sub. : shermanii

Propionibacterium shermanii แยกได้จากผลิตภัณฑ์นม เช่น นมดิบ และ Swiss cheese เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่มีสปอร์ ไม่มีการเคลื่อนไหว สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

anaerobic จนถึง aerotolerant โดยสภาพที่เป็น anaerobe จะมีรูปร่างเล็กกลมและรูปแท่งขนาดเล็กกว่า 0.5 ไมครอน ส่วนในสภาพที่เป็น aerobe มีรูปร่างเป็น club-shaped และ branch หรือเป็นแท่งสาว และในสภาพที่เป็น micro-aerobe จะมีลักษณะเป็นแท่งเล็ก ๆ อยู่กันเป็นคู่ ๆ หรือเป็นสายสั้น ๆ

P. shermanii นอกจากจะสร้างวิตามินบี 12 แล้ว ยังสามารถหมักกรดแลคติค (lactic acid) , กรดไพรูวิค (pyruvic acid) , คาร์โบไฮเดรต และโพลีแอลกอฮอล์ ได้กรดโพรพิโอนิค (propionic acid), กรดอะซิติค (acetic acid) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งกรดโพรพิโอนิคที่ได้จึงเป็นตัวป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่มักเกิดกับการหมักธรรมดาได้ด้วย แต่คุณสมบัติที่สำคัญคือ การผลิตวิตามินบี 12 ในสภาพ anaerobe หรือสภาพ microaerobe fermentation (พรพรรณ,2519 ; ปรีชา,2525).

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี 12 ของ Propionibacterium shermanii

ประกอบด้วย

1.อาหาร ได้แก่

1.1 แหล่งคาร์บอน (carbon source) ได้แก่คาร์โบไฮเดรต เช่น dextrose, maltose , lactose , corn syrup เป็นต้น และสารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติค กรดกลูโคนิค กรดซิตริค และกลีเซอรอล แต่น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีและเหมาะสมที่สุด

1.2 แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) มักเป็นกรดอมิโน หรือโปรตีนจากถั่วเหลือง ข้าวสาลี เนื้อสัตว์ เมล็ดพืชพืช เช่น ฝ้าย lactalbumin ฯลฯ แต่การใช้กรดอมิโนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะได้วิตามินบี 12 ในปริมาณที่ต่ำกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่แหล่งไนโตรเจนที่ดีและเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี 12 คือ แอมโมเนียมซิเตรท และแอมโมเนียมฟอสเฟต

1.3 แร่ธาตุ (minerals) ที่สำคัญได้แก่

- โคบอลต์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี 12 อาจใช้โคบอลต์ในรูปของเกลือที่ละลายน้ำได้ดี เช่น โคบอลต์คลอไรด์ โคบอลต์ซัลเฟต โคบอลต์ไนเตรท หรือเกลือโคบอลต์อื่น ๆ ปริมาณที่ใช้ไม่เกิน 20 มก./ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ไซยาไนด์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี 12 เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิน 0.1-100 มก./ลิตร โดยเติมในรูปของ แคมโมเนียมไซยาไนด์ เฟอริกไซยาไนด์ เป็นต้น หรืออยู่ในรูปของเหลวและแกส เช่น กรดไฮโดรไซยานิก ไฮโดรเจนไซยาไนด์

- แร่ธาตุอื่น ๆ เช่น เหล็ก ช่วยในการเจริญเติบโตและผลิตวิตามินบี 12 , แมกนีเซียม ช่วยในการเจริญเติบโตเพียงอย่างเดียว แต่ทองแดงและนิกเกิล จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์

- วิตามิน ที่สำคัญคือ วิตามินบี 2 เพราะใช้แทน 5,6-Dimethylbenzimidazole ซึ่งเป็นสารเริ่มต้นของวิตามินบี 12

2.สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี 12 ของเชื้อ P. shermanii

2.1 สภาพความเป็นกรด-ด่าง (pH) พีเอช ที่เหมาะสมของ Propionic acid bacteria อยู่ระหว่าง 6.8-7.2 แต่ พีเอช ที่แบคทีเรียชนิดนี้จะเจริญได้ดีที่สุด คือ พีเอช 7.0 ในการหมักจะต้องรักษาให้ พีเอช อยู่ในช่วง 4-9 ถ้าสูงหรือต่ำกว่านี้ วิตามินบี 12 จะสลายตัวได้ เนื่องจาก cobalamin ถูกทำลายได้ง่าย

2.2 อุณหภูมิ ที่ใช้ในการหมักทั่วไปประมาณ 30 ° ซ. เป็นสภาวะที่แบคทีเรียที่สร้างกรดโพรพิโอนิคเจริญได้ดี จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตวิตามินบี 12 ด้วย

2.3 การให้อากาศ เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii สามารถเจริญได้ในสภาพที่ไร้อากาศ หรือมีอากาศเพียงเล็กน้อยได้ดี ดังนั้นในถังหมักขนาดใหญ่จึงได้ปรับให้เป็นสภาพไร้อากาศโดยการผ่าน non-oxidizing gas เช่น ไนโตรเจน หรือ คาร์บอนไดออกไซด์ ลงในอาหาร จากนั้น จึงอาศัยกาซคาร์บอนไดออกไซด์จากแบคทีเรียในการรักษาสภาพไร้อากาศ และเมื่ออาหารสัมผัสกับอาหารในถังหมักในสภาพ microaerobe จึงทำให้มีการสร้างวิตามินบี 12ได้ดี แต่ถ้ามีออกซิเจนมากเกินไป ผลผลิตของ cobalamin จะลดลง (พรพรรณ,2519 ; ศรพิน , 2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักด้วยเชื้อผสม
(Mixed culture fermentation)

การทำเทมเป้โดยวิธีพื้นบ้านของชาวอินโดนีเซีย เริ่มต้นโดยการนำถั่วเหลืองมาแช่น้ำ และผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ดังภาพที่ 2 การเตรียมในลักษณะนี้จะมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ต่าง ๆ ได้ เนื่องจากขาดการควบคุมสภาพการหมักและความบริสุทธิ์ของเชื้อ (Martinelli et al.,1964) ซึ่งจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนได้แก่ แบคทีเรีย และยีสต์ จากการศึกษาของ SamSon et al.(1987) ได้แยกจุลินทรีย์จากเทมเป้ที่ผลิตในประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่า มีจุลินทรีย์หลายชนิดที่ปนเปื้อนในเทมเป้และทำให้ได้เทมเป้ที่มีคุณภาพไม่ดีนัก เช่น Lactic acid bacteria , E. coli , Bacillus aureus , Staphylococcus aureus , Yersinia enterocolitica เป็นต้น

ดังนั้นจึงมีการใช้เชื้อราที่บริสุทธิ์ในการหมักเทมเป้เพื่อให้ได้เทมเป้ที่มีคุณภาพดี โดยการแยกเชื้อราจากเทมเป้ที่ผลิตครั้งที่แล้ว มาเลี้ยงบนอาหารวุ้น (agar slants) จนกระทั่งเชื้อรามีการสร้างสปอร์ จึงทำ spore suspension ที่มีความเข้มข้นของสารละลายสปอร์ 15^{6} - 10^{7} สปอร์ ต่อ มล. ถ้ามีความเข้มข้นต่ำกว่านี้จะทำให้การหมักยาวนานขึ้น หรือสามารถใช้หัวเชื้อผง (วราวุฒิ, 2530) ในการหมักเทมเป้ได้เช่นเดียวกัน

แต่จากการศึกษา พบว่าเทมเป้ที่ผลิตด้วยวิธีดั้งเดิมของชาวอินโดนีเซีย มีกลิ่น - รส ความสามารถในการย่อย ปริมาณสารอาหาร และอายุการเก็บรักษาดีกว่าเทมเป้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราบริสุทธิ์ ทั้งนี้เนื่องจากการหมักแบบดั้งเดิมนั้นมีแบคทีเรียร่วมในการหมักด้วย จึงทำให้คุณภาพของเทมเป้ดีขึ้น ดังนั้นการหมักเทมเป้ในปัจจุบันอาจใช้หัวเชื้อผสม (mixed culture) จากการผสมเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ 2-3 เชื้อเข้าด้วยกัน เรียกหัวเชื้อนี้ว่า mixed pure culture ซึ่งอาจเป็นการผสมระหว่าง เชื้อแบคทีเรียกับเชื้อรา หรือเชื้อยีสต์กับเชื้อรา หรือทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา ก็ได้ เพื่อให้ได้เทมเป้ที่มีลักษณะที่ต้องการ มีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสม มีกลิ่น-รส กลิ่นหอม เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ การหมักเทมเป้ด้วยหัวเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา Rhizopus และแบคทีเรีย ยังไม่ทำให้เกิดอาการลมในท้องต่อผู้บริโภคได้ด้วย (Martinelli et al. , 1964 ; Shurtleff and Aoyagi,1979)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาชนะบรรจุในการหมัก (Package)

เดิมที การหมักเทมเป้จะบรรจุในใบตองแล้วนำไปบ่ม แต่พบว่า เทมเป้ที่ได้มีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์หลายชนิดต่อมาจึงมีการทดลองทำเทมเป้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 31°-32° ซ. นาน 24 ชั่วโมง เทมเป้ที่ได้มีเส้นใยปกคลุมหนาแน่น นอกจากนี้ยังสามารถทำเทมเป้ในถุงพลาสติกหรือถาดชนิดต่าง ๆ เพื่อเพิ่มปริมาณของเทมเป้ในแต่ละครั้งให้มากขึ้น โดยสามารถทำได้ในถาดไม้ (25 × 24 × 5 ซม.) ถาดโลหะ ถาดอลูมิเนียม หรือถาดสเตนเลส เป็นต้น

ความชื้นของถาดที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา เนื่องจากเชื้อรา R. oligosporus เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ จากการศึกษาพบว่า ถาดโลหะที่เจาะรูหน้าพื้นถาดและปิดชั้นถั่วเหลืองด้วยวัสดุเจาะรู เป็นแม่พิมพ์ที่ดีที่สุดต่อการหมักเทมเป้ เนื่องจากเชื้อรามีการสร้างเส้นใยในปริมาณมากและยึดเกาะเมล็ดถั่วได้ดี

การหมักเทมเป้ในถาดโลหะ มีข้อดีคือ สามารถเอาแผ่นเทมเป้ออกจากถาดได้ง่าย แผ่นเทมเป้ไม่ติดกับผนังของถาด การหมักเทมเป้ในถาดที่มีขนาดต่าง ๆ กัน มีผลในระยะเวลาในการหมักต่างกันด้วย เช่น ถาดที่มีขนาดเล็กจะใช้เวลาในการหมักสั้นกว่าถาดที่มีขนาดใหญ่ และ วิธีการบ่มก็ต่างกัน เช่น ในการหมักถั่วเหลืองบดในถาดขนาดบรรจุได้ 4 กิโลกรัม ใช้เวลาในการหมักครั้งแรก 15 - 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 31° ซ. แล้วนำมาบ่มต่อที่อุณหภูมิห้อง (28° ซ.) จนกระทั่งอุณหภูมิถั่วเหลืองสูงถึง 47° ซ. จึงหยุดการหมัก

นอกจากนี้ ยังสามารถหมักเทมเป้ในหลอดเซลโลเฟน หรือถุงพลาสติกที่เจาะรู ซึ่งทำให้สะดวกต่อการนำไปใช้ เนื่องจากไม่ต้องข่าเชื้อก่อนการบรรจุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 ขั้นตอนการเตรียมเทมเป้แบบดั้งเดิม

ที่มา: Martinelli et al.(1964)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
97011

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ :

ถั่วเหลืองพันธุ์สุโขทัย

2. เชื้อจุลินทรีย์ :

2.1 พิวเชื้อรา Rhizopus oligosporus วิธีการเตรียมมีดังนี้ (Krusong,1986)

เตรียมปลายข้าวนึ่งในฟลาสก์ขนาด 1 ลิตร (โดยให้ปลายข้าวที่สะเด็ดน้ำและข่าเชื้อแล้วกระจายอยู่ทั่วผิวของฟลาสก์) ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา R. oligosporus (ที่เลี้ยงไว้ในอาหาร PDA เป็นเวลา 5 วัน ลงให้ทั่วฟลาสก์ บ่มที่อุณหภูมิ 35° ซ. จนเกิดสปอร์สีดำโดยทั่วลดให้แห้งที่อุณหภูมิ 45° ซ. นำมาผสมกับแป้งสาลี (ฆ่าเชื้อโดยลอบที่อุณหภูมิ 80° ซ.24 ชั่วโมง) นำไปบด บรรจุขวดปิดฝนิกให้เรียบร้อย

2.2 เชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

ถ่ายเชื้อ P. shermanii 1250 ลงในอาหาร complete medium ซึ่งประกอบด้วย (กรัมต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร) กลูโคส 10.0 , ยีสต์สกัด 5.0 , acid hydrolysis of casein 1.0 , pancreatic digest of casein 1.5 , biotin 0.0003 , calcium pantothenate 0.004 , NaH_2PO_4 1.6 , K_3PO_4 1.6 , $MgCl_2.6H_2O$ 0.1 , $FeSO_4.7H_2O$ 0.01 และ $CoSO_4.7H_2O$ 0.012 ปรับ pH เท่ากับ 6.8 ก่อนนำไปฆ่าเชื้อภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที บ่มฆ่าเชื้อไว้ที่ 35° ซ. 24 ชั่วโมง นำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3. สารเคมี :

3.1 80% lactic acid

3.2 3 ppm $CoSO_4$

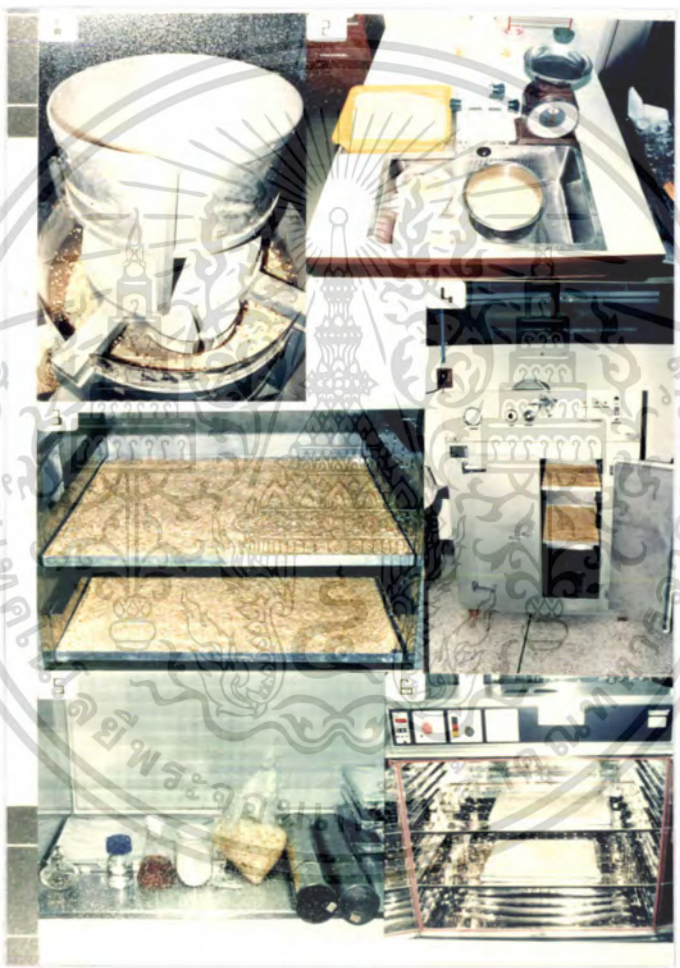
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ภาชนะบรรจุ :

ถาดอลูมิเนียมขนาด 30 ซม. 45 ซม. 3 ซม.

5. อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ปิเปต ตะเกียงแอลกอฮอล์ กะละมัง ตะกร้า (ดังภาพที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 อุปกรณ์และขั้นตอนการเตรียมเทมเป้:(1) แยกเปลือกด้วยเครื่องแยกเปลือก,(2)ถั่วเหลืองผ่านขั้นตอนการเตรียมช่วงต้น:(3)การทำให้ผิวหน้าของถั่วเหลืองแห้ง:(4)ตู้ cabinet dryer:(5)ช่วงการถ่ายหัวเชื้อ:(6)การบ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14080

ขั้นตอนการวิจัย

1. การเตรียมเทมเป้ มี 3 ขั้นตอน ดังนี้

1.1 แช่ถั่วเหลือง (ที่กระเทาะเปลือกด้วยเครื่องกระเทาะเปลือก ดังภาพ 3-1) ในน้ำเติมสารละลายกรดแลคติค 80 % จำนวน 1 % ของปริมาณน้ำที่ใช้ อบที่อุณหภูมิ 70 ° ซ. นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแยกเปลือกออก ล้างน้ำ และทิ้งให้สะเด็ดน้ำ (ดังแสดงในภาพ 3-2) นำไปอบให้แห้งใน cabinet dryer (ดังภาพที่ 3-3 และ 3-4) จนกระทั่งเมล็ดถั่วเหลืองมีความชื้นประมาณ 55 % นำถั่วเหลืองที่เตรียมได้ไปฆ่าเชื้อด้วยความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วทำให้เย็น

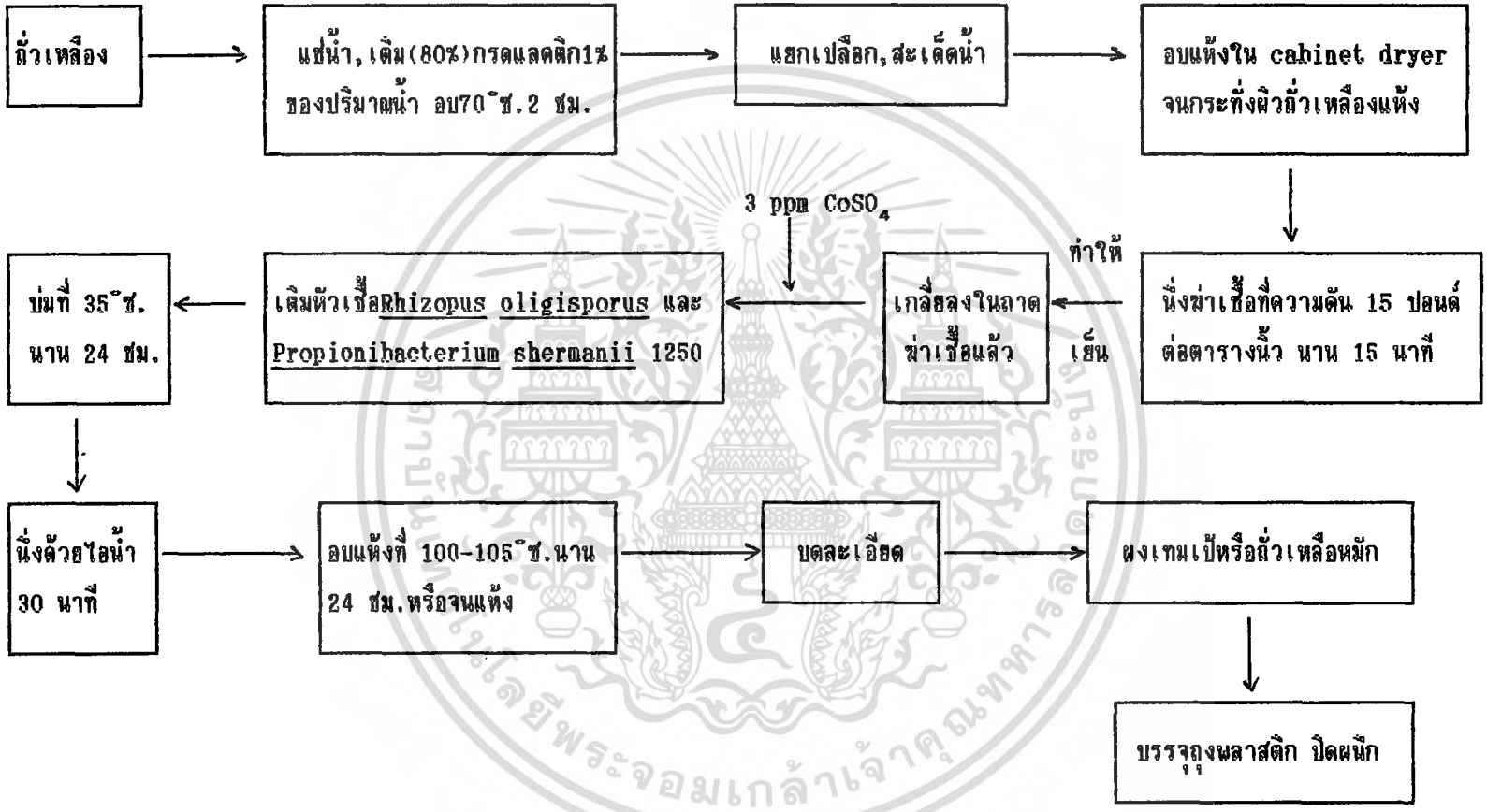
1.2 นำถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ (1400 กรัม) เทลงในถาด (30 ซม. 45 ซม. 3 ซม.) ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 180 ° ซ. เติมโคบอลต์ซัลเฟต ($CoSO_4.H_2O$) 3 ppm คลุกให้ทั่วเติมเชื้อรา R. oligosporus ผงที่เตรียมไว้ 7.0 กรัม และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 40 มล. ต่อถาด (สำหรับถั่วเหลืองหนา 2 ซม.) คลุกให้ทั่ว ปิดผิวหน้าถั่วเหลืองด้วยกระดาษฟอยล์ที่แบ่ง 2 ส่วน คือ ส่วนที่เจาะรูและส่วนที่ไม่เจาะรู นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 ° ซ. (ดังภาพที่ 3-6) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3 นำเทมเป้ที่ได้มาทำการหยุดการเจริญของเชื้อโดยนึ่งที่อุณหภูมิ 100 ° ซ.นาน 30 นาที แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 ° ซ. ค้างคืนหรือจนกระทั่งแห้ง นำไปบดละเอียด บรรจุถุงพลาสติก ปิดผนึกเก็บรักษาในตู้แช่แข็ง

ขั้นตอนการเตรียมเทมเป้โดยสรุปแสดงในภาพที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดกลางเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี



ภาพที่ 4 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตเทมเป้จากเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 .ในถาด

2. ตัวแปรที่ศึกษาและการวิเคราะห์

2.1ชั้นความหนาของถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในถาด

โดยนำถั่วเหลืองที่ผ่านการเตรียมจากขั้นตอนที่ 1.1เตรียมลงในถาดโลหะให้มีความหนาของชั้นถั่วเหลือง 1.0 ซม. (ถั่วเหลือง 800 กรัมต่อถาด) , 2.0 ซม. (ถั่วเหลือง 1,400 กรัม ต่อถาด) และ 3.0 ซม. (ถั่วเหลือง 2,300 กรัมต่อถาด) ผ่าเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ในปริมาณตามขั้นตอนที่ 1.2 หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°ซ. นาน 24 ชั่วโมง จึงเก็บตัวอย่างนำมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ตามขั้นตอนที่ 1.3 นำมาวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ (soluble carbohydrate), ความเป็นกรด (Total acidity) และ พีเอช (pH)

2.2 ผลการให้ลากาศ ต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

โดยนำขั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการหมักจากข้อ 2.1 มาทำการศึกษาโดยปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรูและไม่เจาะรู นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35° ซ.นาน 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างและนำมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตามขั้นตอนที่ 1.3 วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตละลายน้ำ ความเป็นกรด และพีเอช

2.3 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองร่วมกับเชื้อรา Rhizopus oligosporus1

โดยนำถั่วเหลืองในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 มาฆ่าเชื้อรา R. oligosporus ในปริมาณตามขั้นตอนที่ 1.2 ของการเตรียมเทมเป้ และเชื้อแบคทีเรีย P shermanii 1250 ในปริมาณ 0,20,30,40,และ 50 มล.ต่อถาด แต่ละถาดมีการใส่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 2.2 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35° ซ.นาน 24 ชั่วโมง จึงเก็บตัวอย่างไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตามขั้นตอนที่ 1.3 และเก็บตัวอย่าง และนำมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตามขั้นตอนที่ 1.3 วิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบรไฮเดรทที่ละลายน้ำ , ความเป็นกรด และพีเอช

2.4เวลาที่เหมาะสมในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250

โดยนำถั่วเหลืองในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 มาถ่ายเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 2.3 และแต่ละอาดให้อากาศโดยวิธีที่เหมาะสมจากข้อ 2.2 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35° ซ. นาน 0,24,48 และ 72 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างแล้วนำมาฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ตามขั้นตอนที่ 1.3 และนำมาวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ , ความเป็นกรด , พีเอช , องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) และอมิโน-ไนโตรเจน (amino - nitrogen) นำตัวอย่างที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 12 โดย microbiological assay โดยใช้เชื้อ Lactobacillus leichmanii ATCC 7830 (AOAC,1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

ทำการทดลอง เพื่อหาสภาพที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมระหว่างเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในถาด ประกอบด้วย ความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ใช้ในการหมัก ลักษณะการให้อากาศ ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ที่เหมาะสม และเวลาที่ใช้ในการหมัก และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่ได้จากสภาพการหมักที่เหมาะสมด้วย

ความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosprus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii

ในการผลิตเทมเป้ในถาดด้วยเชื้อผสม ความหนาของชั้นถั่วเหลืองจะเป็นตัวกำหนดปริมาณการถ่ายเทอากาศและความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักออกสู่ภายนอก ซึ่งมีผลต่อการเจริญของเชื้อผสม โดยเฉพาะของเชื้อรา R. oligosporus

เมื่อพิจารณาความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่มีการให้อากาศด้วยการปิดชั้นถั่วเหลืองด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรูและไม่เจาะรู พบว่ายิ่งชั้นถั่วเหลืองมีความหนามากขึ้น ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำยิ่งสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 2 และ 3 แสดงว่าเชื้อรา R. oligosporus และ เชื้อแบคทีเรีย 2 ซม. และ 3 ซม. ในการผลิตเทมเป้ในถาดแต่เมื่อพิจารณาปริมาณกรดที่เกิดขึ้น จะพบว่าเมื่อชั้นถั่วเหลืองหนาขึ้นปริมาณกรดก็ยิ่งเพิ่มขึ้น แสดงว่าเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 เพิ่มจำนวนได้มาก ซึ่งปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นนี้อาจทำให้เกิดผลกระทบต่อการเจริญของเชื้อราเนื่องจากคุณสมบัติ fungistatic ของกรดโพรพิลลินิค ที่สร้างได้จากเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามในกรณีที่ปริมาณกรดในความหนาของถั่วเหลือง 1 ซม. มีมากที่สุดเนื่องจากในชั้นถั่วเหลืองหนา 1 ซม. เชื้อรา R. oligosporus สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วจนเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ไม่สามารถเจริญแข่งขันได้ ปริมาณของกรดจึงยังสูงอยู่เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ยังไม่ได้นำกรดไปใช้ในกระบวนการเมตาบอลิซึม

และเนื่องจากผลการทดลองในตารางที่ 2 และตารางที่ 3 มีความสอดคล้องกัน คือ มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และ พีเอช ในลักษณะเดียวกัน ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ความหนาของชั้นถั่วเหลืองเท่ากับ 2 ซม.

ตารางที่ 2 ผลของความหนาของถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์เจาะรูต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และ พีเอช ของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง

ความหนาของถั่วเหลือง (ซม.)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ* (มก./100 กรัม)	ปริมาณกรด*	พีเอช*
1.0	13.587[a]	0.7717[a]	6.94[a]
2.0	18.200[b]	0.5405[b]	6.67[b]
3.0	20.270[b]	0.5705[c]	6.34[c]

หมายเหตุ – * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

– ค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดย DMRT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลของความหนาของถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ไม่เจาะรู ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และ พีเอช ของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง

ความหนาของถั่วเหลือง (ซม.)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ* (มก./100 กรัม)	ปริมาณกรด*	พีเอช*
1.0	13.59[a]	0.8408[a]	6.74[a]
2.0	19.30[b]	0.5705[b]	6.48[b]
3.0	24.57[b]	0.7206[a,b]	5.93[c]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

- ค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดย DMRT

ผลของการให้อากาศต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligisporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

ในระหว่างการหมักจำเป็นต้องปิดผิวหน้าของถั่วเหลือง เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอก ในการเปรียบเทียบสภาพการให้อากาศของถั่วเหลืองหมักได้ใช้กระดาษฟอยล์ปิดทับผิวหน้าของถั่วเหลือง โดยการเจาะรูบนกระดาษฟอยล์ในระยะทุก ๆ 1 ตารางเซนติเมตร เพื่อเป็นการให้อากาศ ในขณะที่กระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรูเป็นการจำกัดปริมาณอากาศ ดังแสดง ในภาพที่ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 5 ลักษณะการควบคุมการให้ลากาศของถั่วเหลืองหมักในถาด
ด้วยการปิดผิวหน้าถั่วเหลืองด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรู (P.)
และไม่เจาะรู (NP.)

จากการศึกษาของ Martinelli et al. (1964) พบว่าในการหมักเทมเป้ถ้าใช้กระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรูปิดทับถั่วเหลืองจะทำให้ได้เทมเป้ที่มีลักษณะไม่ดี เนื่องจากลากาศที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรา R. oligosporus มีปริมาณไม่เพียงพอ แต่สำหรับการทดลองหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 เจริญได้ดีใน สภาพที่มีลากาศเล็กน้อย ดังนั้น จึงต้องศึกษาผลของการให้ลากาศเพื่อให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองในระหว่างการหมักเทมเป้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำในเทมเป้ที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์เจาะรู และ กระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรูมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 4 โดยปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเทมเป้ที่ปิดด้วยกระดาษฟลอล์ไม่เจาะรูมีสูงกว่าในเทมเป้ที่ผลิตในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟลอล์ที่เจาะรู แสดงว่าในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟลอล์ที่ไม่เจาะรูมีการย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรทมากกว่า

ตารางที่ 4 ผลของการให้ลมกาศบนผิวของถั่วเหลืองหมักในถาดต่อการเปลี่ยนแปลงการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และพีเอช ของเทมเป้ที่ 24 ชั่วโมง

สภาพของกระดาษฟลอล์[x]	ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ (มก./100 มิลลิ)	ปริมาณกรด	พีเอช
1. เจาะรู	18.2 [a]	0.5405 [a]	6.67 [a]
2. ไม่เจาะรู	19.30 [b]	0.5705 [b]	6.48 [b]

หมายเหตุ - x ทำการหมักในถาดในตู้ปรับสภาพความหนาของชั้นถั่วเหลืองเท่ากับ 2 ซม.

- ค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดย DMRT

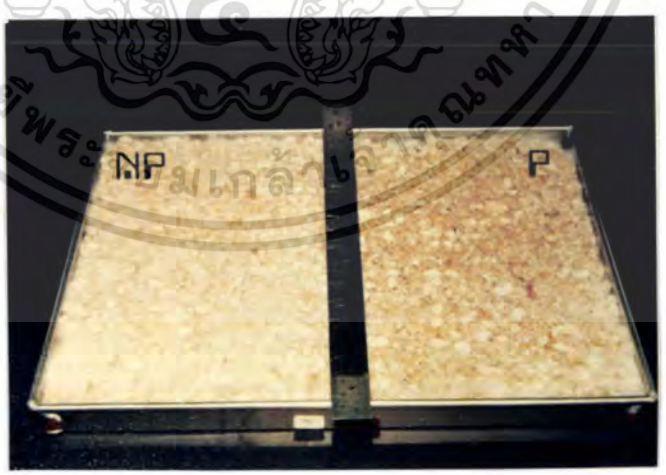
ปกติแล้ว การย่อยสลายของคาร์โบไฮเดรทเกิดขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์อะมิเลสที่ผลิตจาก R. oligosporus ดังนั้นในถาดที่ปิดด้วยกระดาษฟลอล์ที่ไม่เจาะรูมีการเจริญเติบโตของเชื้อรา R. oligosporus มากกว่าที่พบในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟลอล์ที่เจาะรู (ภาพที่ 6) ส่วนสาเหตุที่ทำให้เชื้อรา R. oligosporus ไม่สามารถเจริญได้ดีในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟลอล์เจาะรู ถึงแม้ว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ดีในสภาพที่มีอากาศ เนื่องจากในระหว่างการหมักเชื้อราจะเจริญเติบโต และมีการหายใจอยู่ตลอดเวลาอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นน้ำที่เกิดขึ้นจากกิจกรรมของการหายใจไม่สามารถผ่านรูพรุนกระดาษฟลอล์ได้ทันทำให้เกิดเป็นหยดน้ำและหยดกลับมาที่ผิวหน้าของชั้นถั่วเหลืองหมักเป็นผลทำให้ความชื้นของถั่วเหลืองหมักเพิ่มขึ้น เชื้อแบคทีเรีย p. shermanii จึงสามารถเจริญได้ดีขึ้นมาก (เนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากความชื้นมามากกว่าเชื้อรา) และมีการสร้างกรดโพรพิโอนิคออกมามาก ซึ่งจะไปยับยั้งการเจริญของเชื้อราทำให้เชื้อรามีการเจริญลดลง ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียเมื่อปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ไม่เจาะรูจะทำให้มีสภาพที่ไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii เชื้อราจึงยังคงเจริญได้ดีเป็นปกติ

แม้ว่าปริมาณกรดที่สร้างขึ้นในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรูและที่ไม่เจาะรู ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณกรดในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่เจาะรูมี ปริมาณน้อยกว่าในถาดที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรู ทั้งนี้เนื่องจากกรดที่ถูกผลิตขึ้นมาอาจถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย

สภาวะที่เหมาะสมที่เป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii (อรพิน, 2526) แสดงว่าในสภาพการหมักนี้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii ดังนั้นในการหมักเชื้อผสมระหว่างเชื้อราและแบคทีเรียจึงควรปิดผิวหน้าบ่มเหลืองด้วยกระดาษฟอยล์ที่ไม่เจาะรู



ภาพที่ 6 ลักษณะการเจริญของเชื้อรา Rhizopus oligosporus ในเทมเป้ที่ผลิตจากเชื้อผสมของเชื้อราและแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ด้วยกระดาษอลูมิเนียมฟอยล์ที่เจาะรู (P.)และไม่เจาะรู (NP.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

ทำการหมักถั่วเหลืองในถาดที่มีความหนา 2 ซม. จากนั้นถ่ายเชื้อรา R. oligosporus ในปริมาตรคงที่ และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ในความเข้มข้นต่าง ๆ (0,20,30,40 และ 50 มล.ต่อถั่วเหลือง 1,400 กรัม ต่อถาด

เมื่อความเข้มข้นของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 สูงขึ้นปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำก็สูงขึ้น ยกเว้นในความเข้มข้น 50 มล.ต่อถาด ที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำลดลง (ตารางที่ 5) แสดงว่าในการหมักเทมเป้โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 40 มล.ต่อถาด นั้นเชื้อรา R. oligosporus สามารถเจริญได้ดีที่สุด แต่สาเหตุที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำในเทมเป้ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 50มล.ต่อถาดต่ำกว่าการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 40 มล.ต่อถาด เนื่องจากในระหว่างการหมักปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 มีมากและมีการเจริญตลอดเวลา ซึ่งได้มีการสร้างกรดโพรพิโอนิคทำให้การเจริญของเชื้อรา R. oligosporus ต่ำลง

อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณา พีเอชของของเทมเป้ที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 40 มล.ต่อถาด พบว่าเป็นพีเอชที่อยู่ในช่วงที่เชื้อราสามารถเจริญได้ดี ดังนั้นความเข้มข้นเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 40 มล.ต่อถาด มีความเหมาะสมในการหมักเทมเป้ในถาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นของ Propionibacterium shermanii 1250 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และพีเอช ในเทมเป้ที่ผลิตในถาดในสภาพการหมักที่เหมาะสม

ความเข้มข้นของ P. shermanii 1250 (มล./ถาด)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ (มก./100 กรัม)	ปริมาณกรด	พีเอช
0	12.250[a]	0.3082	6.89
20	12.976[a]	0.5518	6.47
30	15.989[b]	0.5666	6.54
40	18.770[b]	0.5705	6.54[b]
50	17.833[b]	0.5705	5.54[b]

หมายเหตุ – ตัวอย่างเทมเป้มีระยะการหมัก 24 ชั่วโมง–
– ค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดย DMRT

เวลาที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา Rhizopus oligisporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250

ถั่วเหลืองที่หมัก 24 ชั่วโมง มีปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำสูงสุด ซึ่งมีความแตกต่างจากที่ได้จากช่วงเวลาการหมักอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ดังตารางที่ 6 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักที่ที่ 0 ชั่วโมง พบว่าปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ และจะลดลงหลังจากการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24 ชั่วโมง เนื่องจากในช่วงต้นของการหมักเชื้อรา R. oligosporus จะสร้างเอนไซม์อะมิเลสออกมาย่อยสลายคาร์โบไฮเดรทให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ เพื่อใช้ในขบวนการเมตาโบลิซึมของเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. sherwanii 1250 และหลังจาก 24 ชั่วโมงการเจริญของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียเพิ่มมากขึ้น จึงมีการใช้คาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำมากขึ้นด้วย ดังนั้นปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำในถั่วเหลืองที่หมักนานกว่า 24 ชั่วโมงจึงลดลง

ตารางที่ 6 ผลของการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในถาดในช่วงเวลาต่าง ๆ ต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ ปริมาณกรด และพีเอช

ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำ* (มก./100 กรัม)	ปริมาณกรด*	พีเอช
0	9.23[a]	0.4204	6.16
24	19.57[b]	0.6006	6.54
48	16.87[c]	0.9609	6.58
72	14.67[d]	1.2911	6.39

หมายเหตุ - * ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ครั้ง

- ค่าเฉลี่ยที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดย DMRT

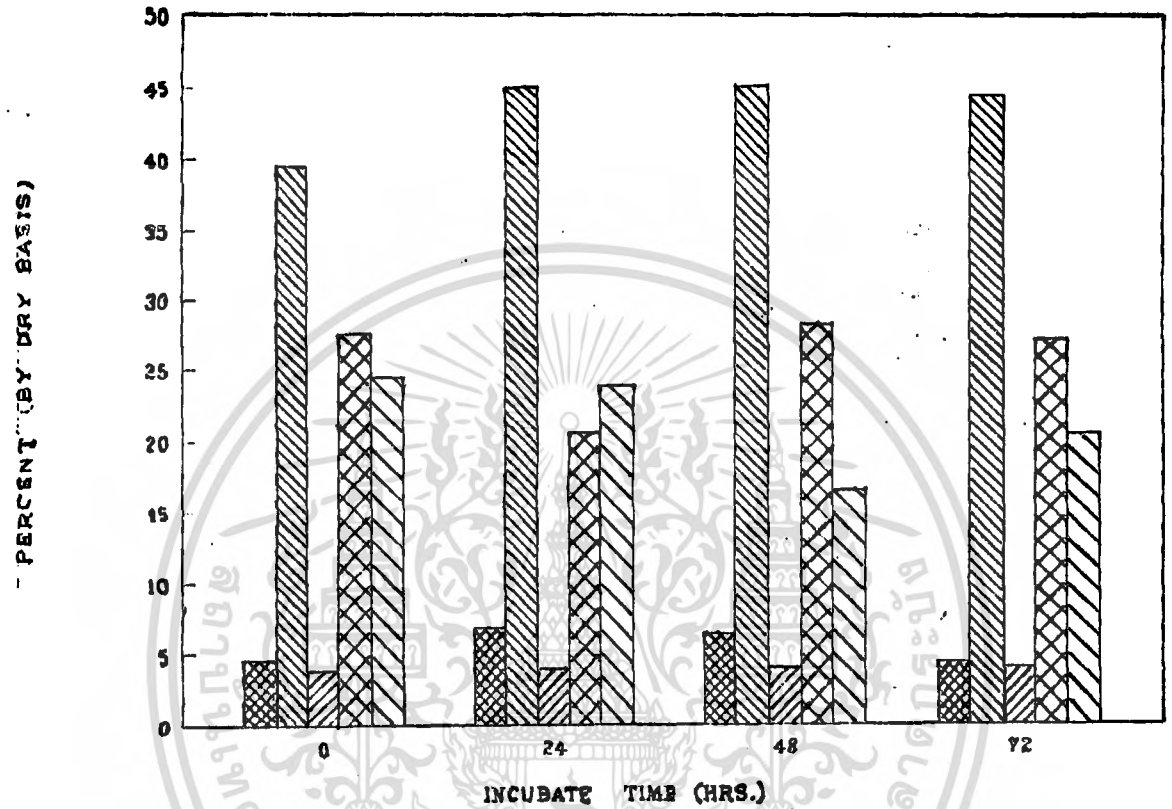
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่ได้จากการหมักในสภาพที่เหมาะสม

เมื่อพิจารณาปริมาณโปรตีนที่มีในเทมเป้ พบว่าโปรตีนในเทมเป้ที่หมัก 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมง มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งเพิ่มขึ้นจากชั่วโมงการหมักที่ 0 ชั่วโมง และเริ่มลดลงหลังจากหมักไปได้ 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ปริมาณของเถ้า และคาร์โบไฮเดรทก็เป็นไปในลักษณะเดียวกัน สำหรับปริมาณไขมัน พบว่าไขมันในเทมเป้ที่หมัก 24 ชั่วโมงมีปริมาณลดลงจากการหมักที่ 0 ชั่วโมง และจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึง 48 ชั่วโมง ปริมาณไขมันจะลดลงเพียงเล็กน้อย (ภาพที่ 7) แสดงว่าการหมักเทมเป้ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก เชื้อรา R. oligosporus สามารถเจริญได้ดี และปริมาณไขมันในเทมเป้ที่หมัก 24 ชั่วโมงลดลงจาก 0 ชั่วโมง เนื่องจากการย่อยไขมันของเอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจากเชื้อรา R. oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย P. shermanii 1250 ได้เป็นกรดไขมันอิสระ

ดังนั้นเวลาในการหมักถั่วเหลืองที่เหมาะสมคือ 24 ชั่วโมงซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในสภาพที่เหมาะสมที่ 24 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 กราฟแสดงปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรท ในเทมเป้ที่หมักด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii ในระยะเวลาต่าง ๆ

หมายเหตุ ความชื้น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรท เถ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของเทมเป้ที่หมักด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligosporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 ในถาด ในสภาพที่เหมาะสมที่ 24 ชั่วโมง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง)

องค์ประกอบทางเคมี	ผลของการหมักที่ 24 ชั่วโมง
เถ้า	3.85
ความชื้น	6.79
ไขมัน	20.60
โปรตีน	43.97
เส้นใย	6.75
คาร์โบไฮเดรท *	18.04
อมิโน-ไนโตรเจน (มก./100 กรัม)	227.80
วิตามินบี 12 (มก./100 กรัม)	297.50

หมายเหตุ * เป็น carbohydrate by differance

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาความหนาของถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมของเชื้อรา Rhizopus oligisporus และเชื้อแบคทีเรีย Propionibacterium shermanii 1250 พบว่าชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. เหมาะสมต่อการหมักมากกว่า 1 และ 3 ซม. โดยไม่จำเป็นต้องให้อากาศเป็นพิเศษจึงปิดถั่วเหลืองด้วยกระดาษฟอยล์ไม่เจาะรู สำหรับหัวเชื้อ Propionibacterium shermanii 1250 ที่เหมาะสม คือ 40 มล.ต่อถาด (ถั่วเหลืองที่ผ่านการเตรียม 1,400 กรัม) หมักร่วมกับเชื้อรา R. oligosporus ประมาณ 0.5 % (โดยน้ำหนักถั่วเหลือง) ซึ่งจะได้เทมเป้ที่มีการเจริญของเส้นใยของ R. oligosporus ได้ดี และเวลาในการหมัก 24 ชั่วโมง จะเหมาะสมที่สุด ซึ่งจะได้เทมเป้ที่มีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

ความชื้น 6.97 % , แร่ธาตุ (เถ้า) 3.85 % , ไขมัน 20.60 % , โปรตีน 43.97 % เส้นใย 6.75 % , คาร์โบไฮเดรท 18.04 % , อมิโน-ไนโตรเจน 227.80 มก./100 กรัม และวิตามินบี 12 297.50 นก./100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1.ปรียา วิบูลย์เศรษฐ. 2525. จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร.ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.คณะอุตสาหกรรมเกษตร.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

2.พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์. 2519. การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตวิตามินบี 12 ของ Propionibacterium freudenreichii sub.shermanii. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.พอใจ ลิ้มพันธ์อุดม. 2532. เอกสารการสอนปฏิบัติการเคมีอาหาร. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4._____.2533. เอกสารประกอบการสอนสถิติและการควบคุมคุณภาพ.ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

5.ลาวัณย์ ไกรเดช. 2519. เทมเป้และผลิตภัณฑ์เลียนแบบเทมเป้. อาหาร 8(3):21-27

6.วรรณดี แสงดี.2529. การหมักถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์ผสมเพื่อใช้เป็นอาหารลูกสุกรหย่านม.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

7.วราวุฒิ ครูส่ง. 2530. มารู้จักเทมเป้กันดีกว่า. เอกสารประกอบนิทรรศการ'ลาดกระบัง'นิทรรศครั้งที่ 4 คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

8.สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ถั่วเหลืองในประเทศไทย.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

9.สมชาย ประภาวัต. 2532. คุณค่าอาหารของถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง. อาหาร 9(3):174-180

10.สุภร วนาอินทราธุธ. 2532. การศึกษาพัฒนาโปรตีนในเทมเป้. ปัญหาพิเศษ.ภาควิชาอุตสาหกรรมการเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

11.อรพิน ภูมิภมร. 2526. จุลินทรีย์ที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมเกษตร สิ่งแวดล้อม. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12.Assiciation of Official Analysis Chemists. 1975. Official of analysis. 12 th ed Association of Analytical Chemists, Wasington DC:

13.Hesseltine.C.W. 1965. A millennion of fangi,food and fermentation.Mycogia 57:149-197

14.Krusong,W. 1986. Fermented mungbean residue by Laru; traditional noculum. Paper presented to the United Nation University:Training Coruse in Tempeh Permentation held at Bagor. Indonesid. pp.15

15.Martinelli,A.;Filho and C.W. Hessiltine.1964. Tempeh fermentation:package and tray fermentations. Food Tech. 18(5):167-171

16.Murata,K;H.Ikehata and T.Miyamoto. 1967. Studies on the nutritional value of tempeh. J.Food Sci. 32:580-585

17.Samson.R.A.; J.A. Van Kooz and E.De.Boer. 1987. Microbiological quality of commercial tempeh in Netherland.J.Food Prorection 50(2):92-94

18.Shurtleff,W. and A.Aoyagi. 1979. The book of tempeh. Harper and Raw Publishers.New York.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การวิเคราะห์หา soluble carbohydrate (anthrone method)

ชั่งตัวอย่างเทมเป้ละเอียด 1.0 กรัม เติมน้ำกลั่นเดือด 99.0 มล. เขย่าแล้วทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง กรอง เอาส่วนใส 1.0 มล.ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย anthrone reagent(ละลาย anthrone reugent 0.1% ในสารละลายกรดซัลฟุริคที่เจือจางด้วยน้ำกลั่น 300 มล.ต่อกรดซัลฟุริค sp.gr.1.84 760 มล.) 5.0 มล. (ทำในอ่างน้ำแข็ง) เขย่าสารละลายให้เข้ากันแล้วนำไปแช่ในน้ำเดือด 12 นาที แล้วรีบนำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งทันที นำไปวัดค่า O.D. ที่ 630 นาโนเมตร

นำค่าที่อ่านได้ไปหาค่า soluble carbohydrate จาก standard curve ซึ่งได้จากการวัด O.D. ของสารละลายกลูโคสเข้มข้น 1.0,0.8,0.6,0.4,0.2 และ0.0 มก./มล. ที่ 630 นาโนเมตร

2.การหาปริมาณกรดทั้งหมด (total acidity)

ชั่งเทมเป้ละเอียด 1.0 กรัม เติมน้ำกลั่น 100.0 มล. เขย่าแล้วทิ้งไว้ประ มาณ 1 ชั่วโมง ปิเปตส่วนใส 50 มล. ลงในฟลาสก์ 250 มล. นำไปไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล โดยใช้ฟีนอลฟ์ธาลีน 1% เป็นอินดิเคเตอร์ จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู ทันทีกปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอลที่ใช้ นำมาคำนวณหาปริมาณกรดจาก

$$\%\text{กรดแลคติค} = \frac{90.0\% \text{ ปริมาตรของ } 0.1\text{ N NaOH ที่ใช้ } \times \text{ นอร์มอลของ NaOH} \times 100}{1000 \times \text{ น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.การหาปริมาณอมิโนไนโตรเจน (amino-nitrogen) (AOAC,1975)

ชั่งเทมเป้ละเอียด 5.0 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มล. เติมน้ำกลั่นแช่เย็นที่ปราศจากแอมโมเนีย 50 มล. เขย่าทุก ๆ 3 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน กรองเอาส่วนใสลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มล. นำตะกอนที่เหลือมาสกัดเช่นนี้ซ้ำอีก 3 ครั้ง จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 500 มล.

นำสารละลายที่เตรียมได้ 150 มล. มาระเหยบนอ่างน้ำร้อน (100 ° ซ.)จนกระทั่งได้ปริมาตร 40 มล. จึงเติมสารละลายกรดละซิติคเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ต้มต่ออีก 5 นาที (เริ่มจับเวลาเมื่อสารละลายเริ่มเดือด) นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

ปิเปตส่วนที่กรองได้ 20 มล. ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มล. เติมฟีนอลฟ์ธาลีน 1% 10 มล.เขย่าให้เข้ากัน นำไปไตเตรตกับสารละลายแบเรียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 นอร์มอล (ทราบความเข้มข้นแน่นอน) จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพู ไตเตรตย้อนกลับด้วยสารละลายไฮโดรคลอริคเข้มข้น 0.2 นอร์มอล จนได้สารละลายไม่มีสี บันทึกปริมาตรสารละลายที่ใช้ในการไตเตรตทั้งสอง.

สำหรับสารละลาย blank ใช้น้ำกลั่นปราศจากแอมโมเนียแช่เย็น 20 มล.

$$\text{Amino-nitrogen (มก/100กรัม)} = (50/3)(x/y)(100)$$

เมื่อ $X = (2.8 \text{ มก. amino-nitrogen})(\text{มล.Ba(OH)}_2)$

$Y =$ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.Proximate Analysis (พลใจ, 2523)

3.1 ปริมาณความชื้น (moisture content)

ชั่งเทมเป้ละเอียด 1.0 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ลงในถ้วยกระดาษฟอยล์ที่ผ่านการลบแห้งและทราบน้ำหนัก นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 ° ซ. นาน 6 ชั่วโมง นำมาทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (desiccator) ทันที จนกระทั่งเย็น นำมาชั่งน้ำหนัก (อาจทำอีกครั้งจนกระทั่งได้น้ำหนักคงที่)

$$\text{ความชื้น}(\%) = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนลบ(กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังลบ(กรัม)}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

3.2 ปริมาณเถ้า (ash)

ชั่งเทมเป้บดละเอียด 1.0 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ลงในในถ้วยกระเบื้อง (crusible) ที่แห้งสะอาดและทราบน้ำหนัก นำไปเผาบน hot-plate เพื่อเพิ่มความร้อนและไล่ความชื้นจนตัวอย่างถูกไหม้หมด นำไปเผาในเตาเผา (furnace muffle) ที่อุณหภูมิ 550°ซ. จนได้เถ้าสีขาวหรือจนได้น้ำหนักคงที่ นำมาทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก

$$\text{เถ้า}(\%) = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าที่เหลือ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

3.3 ปริมาณไขมัน (crude fat)

นำเทมเป้ไล่ความชื้นแล้วประมาณ 1.0 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ลงในกระดาษกรองเซลลูโลสที่ผ่านการลบแห้งที่ 80° ซ. จนไม่มีความชื้น แล้วบรรจุลงใน thimble ปิดด้านบนด้วยสำลีแล้วนำ thimble ใส่ลงในหลอดสกัด (Extraction tube) สกัดด้วยสารละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายปิโตรเลียมอีเทอร์ ปริมาณ 50 มล. ภายใต้ความร้อน ทำการสกัดนาน 16 ชั่วโมง นำมาลนแห้ง ทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ก่อนที่จะชั่งน้ำหนัก

$$\text{ไขมัน (\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักตัวอย่างก่อนสกัด(กรัม)-น้ำหนักตัวอย่างหลังสกัด)(กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

3.4 ปริมาณเส้นใย (crude fiber)

ชั่งเทมเป้ที่สกัดไขมันแล้วประมาณ 1.0 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) ลงในฟลาสก์ย่อย เติมกรดซัลฟุริคเข้มข้น 0.025 นอร์มอลลี่ตัมเดือด 200 มล. ใส่เศษกระเบื้อง 2-3 ชิ้น เสียบคอนเดนเซอร์ทำการต้มนาน 30 นาที กรองด้วยผ้ากรองโดยดูดความดัน ล้างกากด้วยน้ำกลั่นร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง ล้างกากด้วยสารละลายโปตัสเซียมซัลเฟตเข้มข้น 10 % ร้อน เทกากลับไปยังฟลาสก์ กรองกากอีกครั้ง แล้วล้างกากด้วยแอลกอฮอล์ 95 %จำนวน 30 มล.นำกากที่ได้ทั้งหมดใส่ลงในถ้วยกระเบื้อง นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 ° ซ. นาน 2 ชั่วโมง จึงนำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 600° ซ.นาน 30 นาที ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักจนกระทั่งคงที่ คำนวณหาปริมาณเส้นใยจาก

$$\text{ปริมาณเส้นใย(\%)} = \frac{\text{(น้ำหนักตัวอย่างหลังต้มกรด(กรัม)-น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา(กรัม))}\times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)}}$$

3.5 ปริมาณโปรตีน (Crude protein)

ชั่งเทมเป้ละเอียดประมาณ 1.0 กรัม ลงในกระดาษกรอง ใส่ลงในขวดเจลดาห์ลขนาด 500 มล. เติมคะตะลิสต์ 10 กรัมและกรดซัลฟุริคเข้มข้น 25 มล. นำไปต่อลบนเครื่องต้มกรดที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระบบดูดควันที่ดี โดยเริ่มต้นใช้ความร้อนต่ำประมาณ 5 นาที แล้วจึงเร่งความร้อนให้สูงขึ้น ช่อย จนกระทั่งได้สารละลายสีฟ้าใส จึงปิดเครื่องย่อย ทิ้งให้เย็นและหมดควันของไอกรด

เติมน้ำกลั่นลงในสารละลายที่ย่อยได้ 100 มล. เขย่าให้เข้ากัน ปิเปตสารละลายกรดบอริค 4 % จำนวน 100 มล. ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มล ที่แห้งสะอาด หยดอินดิเคเตอร์ผสม (Mixed indicator:10 มล.ของ 0.1% บรอมครีซอลกรีน กับ 2 มล.ของ 0.1 % เมธิลเรด) ประมาณ 4 หยด แล้วนำไปวางใต้เครื่องกลั่นให้ปลายคอนเดนเซอร์จุ่มในสารละลาย (ก่อนทำการกลั่นควรเปิดเครื่องกลั่นโปรตีน เพื่อให้น้ำเย็นไหลผ่านคอนเดนเซอร์ และเปิดเตาของชุดกลั่นเพื่อให้มีความร้อนเพียงพอในการกลั่นเพื่อป้องกันการไหลย้อนกลับของสารละลายที่ใช้จับแอมโมเนีย)

ปิเปตสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40% 100 มล. ลงในขวดย่อยโดยให้ค่อย ๆ ไหลลงไปตามข้างขวด รีบวางบนเตากลั่นทันที กลั่นจนกระทั่งได้สารละลายในฟลาสก์ของสารละลายกรดบอริค 4 % มีปริมาตรประมาณ 200 มล. หรือกระดาษลิตมัสไม่เปลี่ยนสี สารละลายที่ได้จะมีสีเขียวน้ำเงิน ปรับคอนเดนเซอร์ขึ้นเหนือระดับของเหลวประมาณ 1 ซม.ล้างปลายคอนเดนเซอร์ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่ได้ไปไตเตรตด้วยสารละลายกรดซัลฟุริคเข้มข้น 0.1 นอร์มอล (ทราบค่าแน่นอน) จนกระทั่งสารละลายเป็นสีชมพู

นำฟลาสก์ขนาด 250 มล. ที่มีน้ำกลั่นประมาณ 100 มล. ไปวางใต้เครื่องกลั่นโดยให้ปลายคอนเดนเซอร์จุ่มลงในน้ำ แล้วจึงปิดเตา

ทำการทดลองกับ blank โดยใช้กระดาษกรองแทนตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณโปรตีน(\%)} = \frac{1.4(V_1-V_2) \times N \times 5.7}{W}$$

เมื่อ V_1 = มล.ของกรดซัลฟุริคที่ใช้ไปในการไตรเตรตตัวอย่าง

V_2 = มล.ของกรดซัลฟุริคที่ใช้ไปในการไตรเตรต blank

N = นอร์มัลของกรดซัลฟุริคที่ใช้ในการไตรเตรต

W = น้ำหนักของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 ปริมาณคาร์โบไฮเดรท

ปริมาณคาร์โบไฮเดรท(%) = 100-(%ความชื้น + %เถ้า + %ไขมัน + %โปรตีน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ โดยอาศัยการคำนวณตามแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (พลใจ ,2533) ค่าเฉลี่ยของแต่ละตัวแปรที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญนำมาเปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	49.8254	24.9127.	7.2503*	5.14
Residual	6	20.6168	3.4361		
Total variation	8	70.4422			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	0.54144	0.2707	117.70	5.14
Residual	6	0.01408	0.0023		
Total variation	8	0.55542			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณความเป็นกรด (Acidity)ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	3.01194	1.5060	92.96 *	5.14
Residual	6	0.09728	0.0162		
Total variation	8	3.10912			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่ไม่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	180.8608	90.4304	454042 *	5.14
Residual	6	1.1940	0.1990		
Total variation	8	182.0548			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่ไม่เจาะรูที่ค่าต่อความเป็นกรด(pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	1.0614	0.53074	91.5*	5.14
Residual	6	0.0350	0.0058		
Total variation	8	1.0964			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ปิดทับด้วยกระดาษฟอลย์ที่ไม่เจาะรูที่มีผลต่อปริมาณกรด (Acidity) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	2	0.1104	0.05504	5.56*	5.14
Residual	6	0.0594	0.0099		
Total variation	8	0.1694			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟลอกส์เจาะรูและไม่เจาะรู ที่ใช้ปิดทับชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	1	2.0416	2.04164	8.2190*	7.17
Residual	4	0.9934	0.2484		
Total variation	5	3.0350			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟลอกส์ที่เจาะรูและไม่เจาะรู ที่ใช้ปิดปิดทับชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีค่าต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	1	0.0240	0.0240	184.62*	7.17
Residual	4	0.0005	0.0001		
Total variation	5	0.0245			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะกระดาษฟลล์ที่เจาะรูและไม่เจาะรูของชั้นถั่วเหลืองหนา 2 ซม. ที่มีค่าต่อความเป็นกรด (acidity)ในการหมักถั่วเหลืองเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	1	0.013	0.0013	0.95^{NS}	7.17
Residual	4	0.0055	0.0014		
Total variation	5	0.0068			

NS มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ Propionbacterium shermanii ที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	4	111.5410	27.885	135.364	3.48
Residual	10	2.057	0.206		
Total variation	14	123.598			

* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ Propionbacterium shermanii ที่มีต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	1	0.5340	0.5310	295.0*	7.17
Residual	4	0.0071	0.0018		
Total variation	5	0.5411			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของเวลาที่มีต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ละลายน้ำได้ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาดที่มีต่อความเป็นกรด (pH) ในการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมในถาด

Soure of variation	d.f.	SS.	MS.	F	$F_{0.05}$
between treatment	3	173.1469	57.7156	751.144	4.07
Residule	8	0.6214	0.0777		
Total variation	11	173.76831			

* มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้