

บทคัดย่อ

ชีอิ้วเป็นสารปรุงรสที่เป็นที่นิยมโดยเฉพาะในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ การที่ชีอิ้วที่ผลิตในประเทศไทยจะได้รับมาตรฐานอุตสาหกรรมจากกระทรวงอุตสาหกรรม ชีอิ้วต้องมีสมบัติเช่น มีปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดยวิธีเคดัลอย่างน้อย 5.5% ดังนั้นจึงควรมีการวิจัยเพิ่มปริมาณโปรตีนในชีอิ้วเพื่อยกมาตรฐานสินค้าสำหรับการบริโภคภายในประเทศและการส่งออก วิธีการเพิ่มปริมาณโปรตีนในชีอิ้ววิธีหนึ่ง ได้แก่ การเติมผงโปรตีนเอสลงในระยะโมโรมิของการผลิตชีอิ้ว ในการทดลองนี้ได้แยกแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* T25 ซึ่งผลิตโปรตีนที่มีแอกติวิตี 55.6 ยูนิต.มก⁻¹ เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร มีเดียม 73 ที่พีเอช 5.5 หลังจากนั้นทำโปรตีนเอสให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว และภายหลังการทำไดอะลิซิสและไลโอไฟไลเซชัน ได้ผงโปรตีนที่มีแอกติวิตีสูงสุด (12.5 ยูนิต.มก⁻¹) ที่พีเอช 7.0 แสดงว่า เป็นนิวทรัลโปรตีน ผลการทดลองพบว่า โปรตีนเอสแอกติวิตีลดลงเหลือ 4.5 ยูนิต.มก⁻¹ 2 ยูนิต.มก⁻¹ และ 0.5 ยูนิต.มก⁻¹ ที่พีเอช 6.5, 6.0, และ 5.5 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ได้แยกแบคทีเรียที่ผลิตนิวทรัลโปรตีนเอสที่ยังคงมีโปรตีนเอสแอกติวิตีเหลืออยู่เมื่อเร่งปฏิกิริยาในสภาวะค่าพีเอชอยู่ในช่วงกรด ผลการทดลองเก็บผงโปรตีนเอสในถุงสุญญากาศที่ -20⁰ซ หรือเก็บในถุงพลาสติกที่ -20⁰ซ พบว่าสามารถเก็บรักษาผงโปรตีนเอสในถุงสุญญากาศหรือเก็บในถุงพลาสติกที่ -20⁰ซ เป็นเวลาอย่างน้อย 12 วัน โดยไม่สูญเสียแอกติวิตี ผลการเติมผงโปรตีนเอสที่ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 2 ยูนิต.มก⁻¹ ลงในระยะโมโรมิ พบโปรตีนเอสแอกติวิตีในน้ำหมักชีอิ้วสูงขึ้น และพบปริมาณโปรตีนในน้ำหมักชีอิ้วเพิ่มจากเดิม 6.0% เป็น 8.8%

Abstract

Soy sauce is a popular food commodity especially in Southeast Asian region. In order to be awarded the Ministry of Industry's Seal of Standards, there should be at least 5.5% protein content in soy sauce as analysed by the Kjeldahl method. Research should therefore be conducted to increase protein content in soy sauce to raise standards of commodity for local consumption and for export. One way to increase protein content in soy sauce is to add protease powder into the *moromi* stage of soy sauce production. In the following experiments, a bacterium *Bacillus subtilis* T25 which produced protease (55.6 unit.ml⁻¹) when cultured in Medium 73 at pH 5.5, was isolated and identified. The protease was partially purified by ammonium sulfate precipitation and dialysis. The resultant solution was powderized by lyophilization. The protease powder was found to exhibit a maximum protease activity of 12.5 unit.mg⁻¹ at pH 7.0 indicating that it was a neutral protease. The activities were found to reduce to 4.5 unit.mg⁻¹, 2 unit.mg⁻¹ and 0.5 unit.mg⁻¹ when assayed at pH 6.5, 6.0 and 5.5 respectively. The results indicated the isolation of a neutral protease-producing bacterium with remaining protease activities when assayed at acidic pHs. Experimental results revealed that the protease powder could be kept either under vacuum packaging at -20°C or in a plastic bag at -20°C for at least 12 days without losing protease activity. The result of adding protease powder at the final concentration of 2 unit.ml⁻¹ into the *moromi* stage of soy sauce fermentation showed an increase of protein content in soy sauce fermentation broth from 6.0% to 8.8%.