

บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลการเตรียมแป้งถั่วเขียว

แป้งถั่วเขียว จากการนำมาน้ำและร่อนแป้งถั่วเขียวผ่านตะแกรงและนำมาสกัดไขมัน ออกโดยใช้ continuous soxhlet extraction apparatus และใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย พบว่าสามารถกำจัดไขมันออกได้ถึง 2.5-3 เปอร์เซ็นต์ ทำให้แป้งถั่วเขียวมีความเหมาะสมในการย่อยสลายมากขึ้น เพราะมี เปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงขึ้นเล็กน้อย

น้ำหนักของแป้งถั่วเขียวจะลดลงจากเดิมประมาณ 10-15 เปอร์เซ็นต์เนื่องจากการเอาไขมันออกด้วยการสกัดด้วย hexane และเปอร์เซ็นต์โปรตีนจะสูงขึ้นกว่าเดิม 1.5-2 เปอร์เซ็นต์ สีของแป้งถั่วเขียวหลังการสกัดขีดลงเป็นสีครีมอ่อน (รูปที่ 3.2 แป้งถั่วเขียวหลังการสกัดไขมันออกแล้ว) และมีลักษณะเป็นผงขึ้นกว่าเดิม ในขณะที่ก่อนสกัดไขมันแป้งถั่วเขียวจะมีสีเหลืองเข้มและจับตัวกันเล็กน้อย (รูปที่ 3.1 แป้งถั่วเขียวก่อนการสกัดไขมัน)



รูปที่ 3.1 แป้งถั่วเขียวก่อนการสกัดไขมัน



รูปที่ 3.2 แปะกุ้งแห้งหลังจากสกัดไขมันออกแล้ว

3.2 ผลการหาค่าองค์ประกอบทางเคมีของแปะกุ้งแห้ง

เมื่อนำแปะกุ้งแห้งที่สกัดไขมันออกโดยใช้ continuous soxhlet extraction apparatus และใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย มาหาองค์ประกอบทางเคมีคือ ความชื้น ไขมัน เส้นใย เถ้า ปริมาณโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต พบว่าในแปะกุ้งแห้งที่ได้จะมีปริมาณไขมันลดน้อยลงจากเดิม ปริมาณโปรตีนสูงขึ้นเมื่อเทียบปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักแห้งของแปะกุ้งแห้ง ในการสกัดไขมันออกก่อนนั้นจะช่วยทำให้สัดส่วนของแปะกุ้งแห้งมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ทำให้สะดวกต่อการศึกษการย่อยสลายโปรตีน องค์ประกอบทางเคมีของแปะกุ้งแห้งที่สกัดไขมันออกแล้วพบว่ามีปริมาณความชื้น 9.61 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.30 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 0.16 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 3.07 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 25.12 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 61.74 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของแป้งข้าวที่สกัดไขมันออกแล้ว

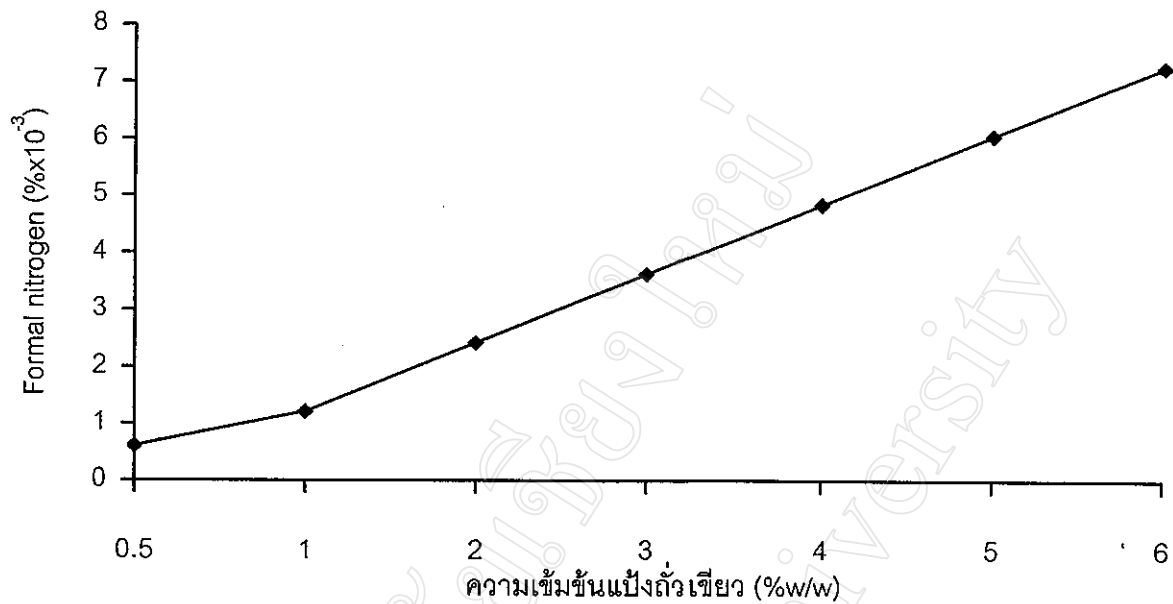
องค์ประกอบทางเคมี	% (w/w)
ความชื้น	9.61
ไขมัน	0.30
เส้นใย	0.16
เถ้า	3.07
โปรตีน	25.12
คาร์โบไฮเดรต	61.74

3.3 ผลการย่อยสลายแป้งข้าวด้วยกรดเกลือเข้มข้น

จากผลการย่อยสลายแป้งข้าวที่สกัดไขมันออกแล้วด้วยกรดเกลือเข้มข้น โดยใช้แป้งข้าว
เขียวน้ำหนักต่าง ๆ กัน ได้แก่ 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 กรัม ด้วยกรดเกลือความเข้มข้นคงที่ ปรับให้เป็น
กลางด้วยโซเดียมคาร์บอเนต และปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ผลการหาปริมาณฟอสฟอรัส
ไนโตรเจน แสดงในตารางที่ 3.2 และรูปที่ 3.3

ตารางที่ 3.2 ผลการย่อยสลายแป้งข้าวด้วยกรดเกลือเข้มข้น

ความเข้มข้นของแป้งข้าว % (w/w)	Formal nitrogen ($\times 10^{-3}$)
0.5	0.60529
1.0	1.21058
2.0	2.42115
3.0	3.63173
4.0	4.84231
5.0	6.05889
6.0	7.26346



รูปที่ 3.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ formal nitrogen
กับการย่อยแอมัลแกมด้วยกรดเกลือเข้มข้น

จากผลการย่อยสลายแอมัลแกมที่ทำจัดไขมันออกแล้วด้วยกรดเกลือเข้มข้น พบว่าปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนเพิ่มสูงขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับน้ำหนักของแอมัลแกมที่ทำกรย่อย โดยที่ความเข้มข้นแอมัลแกม 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 และ 7.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจน 0.60, 1.21, 2.42, 3.63, 4.84, 6.06 และ 7.26 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

3.4 ผลการย่อยแอมัลแกมด้วยเอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ

3.4.1 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยแอมัลแกม

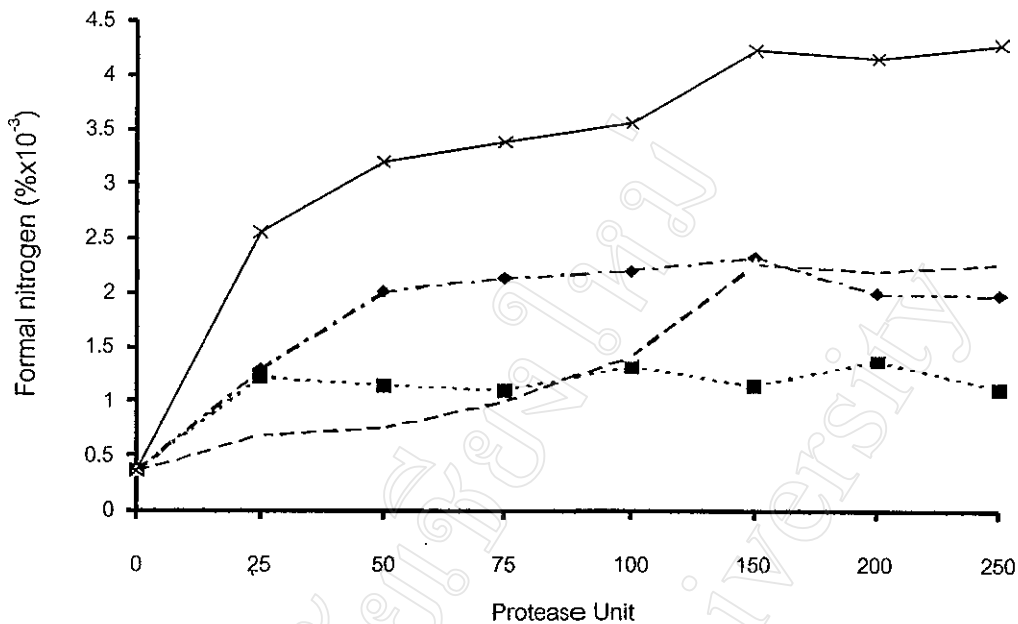
การศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยแอมัลแกม โดยใช้สับสเตรทแอมัลแกมความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยใช้เอนไซม์โปรตีน ความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100, 150, 200 และ 250 ยูนิต ตามลำดับ ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์โปรตีนชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยแอมัลแกม พบว่าการย่อยโปรตีนแอมัลแกมด้วยเอนไซม์โปรตีนจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 ได้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 ยูนิต และค่าที่ได้จะคงที่เมื่อความเข้มข้นของเอนไซม์เป็น 200 และ

250 หน่วยตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ได้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 หน่วย และค่าที่ได้จะคงที่เมื่อความเข้มข้นเอนไซม์ 200 และ 250 หน่วยตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 นี้จะได้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการย่อยโดยโปรติเอสทั้ง 4 ชนิด ซึ่งสูงกว่าการย่อยโดยปาเปน และ *Aspergillus* sp1 เกือบสองเท่า และสูงกว่าการย่อยโดยโบรมิเลนถึง 4 เท่า การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนจะให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 หน่วย แต่ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนจะมีค่าใกล้เคียงกันมากตั้งแต่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50-150 หน่วย แต่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 200 และ 250 หน่วย ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนจะมีค่าต่ำลงเล็กน้อย การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 200 หน่วย แต่ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนที่ได้จะมีปริมาณใกล้เคียงกันทุก ๆ ความเข้มข้นของเอนไซม์คืออยู่ในช่วง $1.1-1.3 \times 10^{-3}$ เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.3 ปริมาณ formal nitrogen ที่ได้จากการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆในปริมาณต่างกันย่อยถั่วเขียว

Unit enzyme	Formal nitrogen (% $\times 10^{-3}$)			
	F.N. Papain	F.N. Bromelain	F.N. sp1	F.N. sp2
0	0.34918	0.35781	0.34918	0.36249
25	1.29009	1.21821	0.68424	2.55185
50	2.00598	1.14987	0.75266	3.19785
75	2.13599	1.09378	0.99246	3.38353
100	2.20157	1.31814	1.41637	3.55200
150	2.32356	1.14987	2.26341	4.22590
200	1.98937	1.37423	2.19561	4.14868
250	1.97721	1.12182	2.26542	4.28206



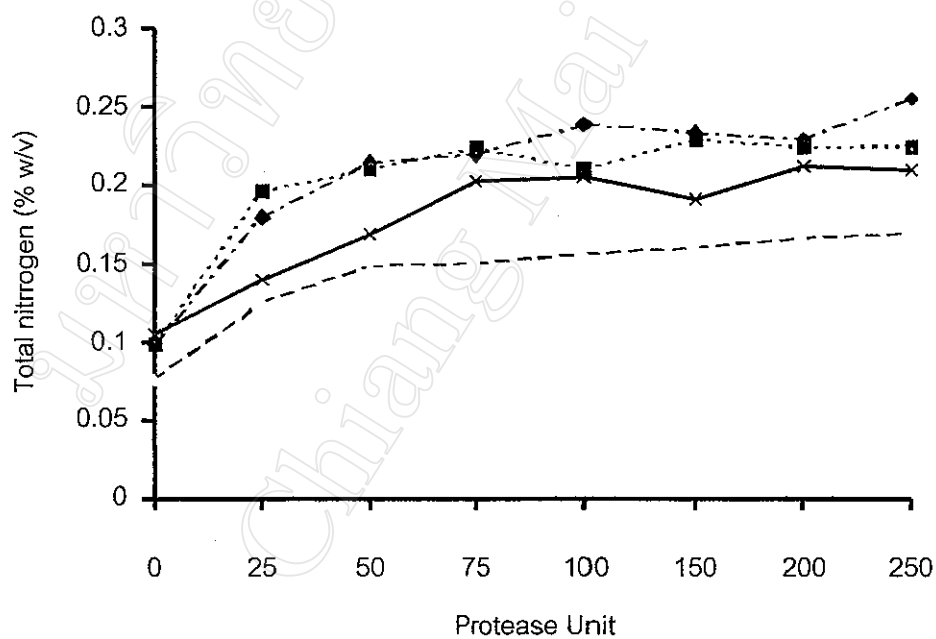
รูปที่ 3.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า formal nitrogen และปริมาณเอนไซม์ในการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

---◆--- F.N. Papain ---■--- F.N. Bromelain --- F.N. sp1 ---×--- F.N. sp2

ผลของการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยแป้งข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอสความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่า การย่อยโปรตีนข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะค่อย ๆ สูงขึ้น และค่าจะคงที่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50 ยูนิต การย่อยโปรตีนข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะเพิ่มสูงขึ้น และคงที่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 75 ยูนิต การย่อยโปรตีนข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์ปาเปนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและคงที่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50 ยูนิต แต่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 200 และ 250 ยูนิต ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นเล็กน้อย การย่อยโปรตีนข้าวเจ้าด้วยเอนไซม์โบรมิเลน พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและคงที่ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 75 ยูนิต

ตารางที่ 3.4 ปริมาณ Total nitrogen ที่ได้จากการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆในปริมาณต่างกันย่อยแป้งถั่วเขียว

Unit Enzyme	Total nitrogen (%)			
	T.N. papain	T.N. Bromelain	T.N. sp1	T.N. sp2
0	0.09855	0.09860	0.07599	0.10419
25	0.17933	0.19600	0.12544	0.13988
50	0.21461	0.21000	0.14825	0.16823
75	0.21933	0.22400	0.15053	0.20299
100	0.23800	0.21000	0.15623	0.20527
150	0.23333	0.22866	0.16003	0.19113
200	0.22866	0.22400	0.16599	0.21128
250	0.25533	0.22440	0.16878	0.20964



รูปที่ 3.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Total nitrogen และปริมาณเอนไซม์ในการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

---◆--- T.N. papain ---■--- T.N. Bromelain ---- T.N. sp1 ---×--- T.N. sp2

จากผลของปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 พบว่าในการย่อยโปรตีนนั้นมีกรดอะมิโนอิสระ สายเปปไทด์ และโปรตีนที่ได้จากการย่อยออกมา ซึ่งความเข้มข้นของเอนไซม์ต่ำที่สุดที่ให้ปริมาณผลผลิตสูงที่สุดคือ 150 ยูนิต การย่อยโปรตีนแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 พบว่าให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ สายเปปไทด์และโปรตีนสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบผลของฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่าผลผลิตที่ได้จากการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้กรดอะมิโนอิสระและสายเปปไทด์นั้น ๆ มากที่สุดและความเข้มข้นเอนไซม์ต่ำที่สุดที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ 150 ยูนิต การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน พบว่าผลผลิตที่ได้จากการย่อยโปรตีนส่วนใหญ่จะเป็นสายเปปไทด์สั้น ๆ และกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งมีปริมาณที่น้อยกว่าการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ปริมาณเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนที่ให้ผลผลิตดีคือ 100 ยูนิต

ตารางที่ 3.5 อัตราส่วนระหว่าง formal nitrogen ต่อ total nitrogen ที่ได้จากการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในปริมาณต่างกันย่อยแป้งถั่วเขียว

Unit Enzyme	F.N./T.N ($\times 10^{-3}$)			
	papain	Bromelain	Sp1	sp2
0	3.543	3.629	4.595	3.479
25	7.194	6.215	5.455	18.243
50	9.347	5.475	5.077	19.009
75	9.739	4.883	6.593	16.668
100	9.250	6.277	9.066	17.304
150	9.958	5.029	14.144	22.110
200	8.700	6.135	13.227	19.636
250	7.744	4.999	13.422	20.426

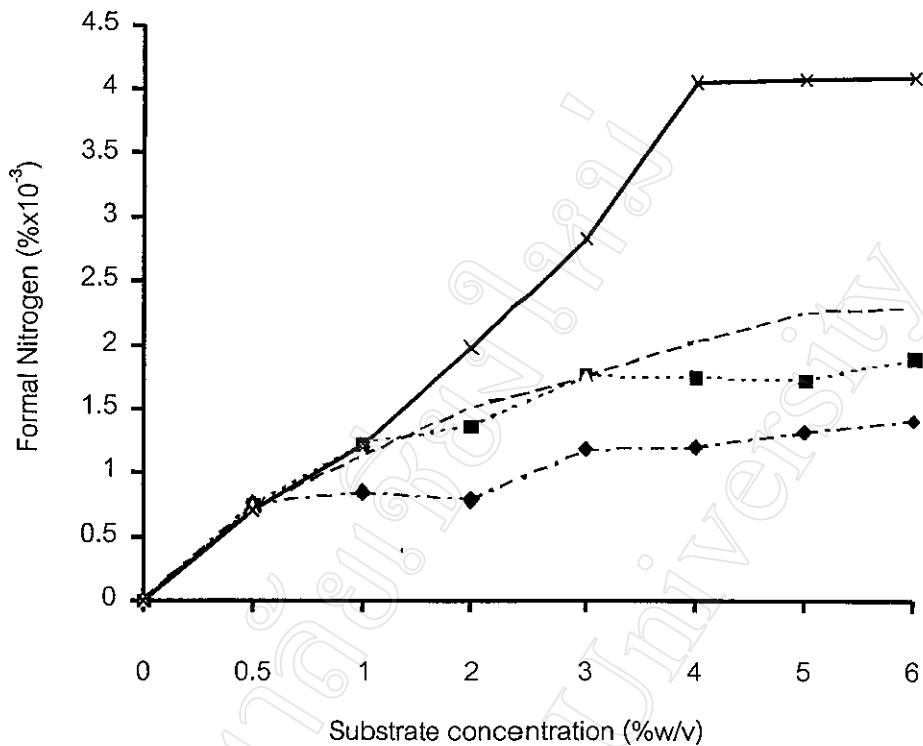
3.4.2 ผลของความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวต่อการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

การย่อยแป้งถั่วเขียวที่ความเข้มข้นต่างๆกันโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 เข้มข้น 150 ยูนิต และใช้เอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนเข้มข้น 100 ยูนิต ย่อยแป้งถั่วเขียว ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร ในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ ที่มี 5 มิลลิโมลาร์ แคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

ผลของความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวต่อการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ พบว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงสุดที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 5 เปอร์เซ็นต์ และค่าที่ได้จะคงที่ที่ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจน 2.2×10^{-3} เปอร์เซ็นต์เมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้น การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงสุด 4.09×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะคงที่ที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 4 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนจะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงสุดที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 6 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะสูงขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียว 4-6 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงสุดที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 6 เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะเริ่มคงที่และใกล้เคียงกันที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 3 เปอร์เซ็นต์ โดยสรุปจะเห็นว่าในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 นั้นจะให้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากการย่อยโดยโปรติเอสทั้ง 4 ชนิด

ตารางที่ 3.6 แสดงปริมาณ formal nitrogen ที่ได้จากการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสเมื่อใช้แป้งถั่วเขียวปริมาณต่างๆ

Substrate concentration	Formal nitrogen ($\% \times 10^{-3}$)			
	F.N. papain	F.N. bromelain	F.N. sp1	F.N.sp2
0	0	0	0	0
0.5	0.75721	0.73459	0.71845	0.70987
1	0.84135	1.22696	1.12899	1.20974
2	0.78526	1.36719	1.50532	1.98429
3	1.17788	1.75982	1.74481	2.83275
4	1.19191	1.73878	2.01850	4.05069
5	1.31811	1.72476	2.25799	4.07806
6	1.40224	1.89303	2.28434	4.09174



รูปที่ 3.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า formal nitrogen และความเข้มข้นของแป้งข้าวเดียว ในการย่อยแป้งข้าวเดียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

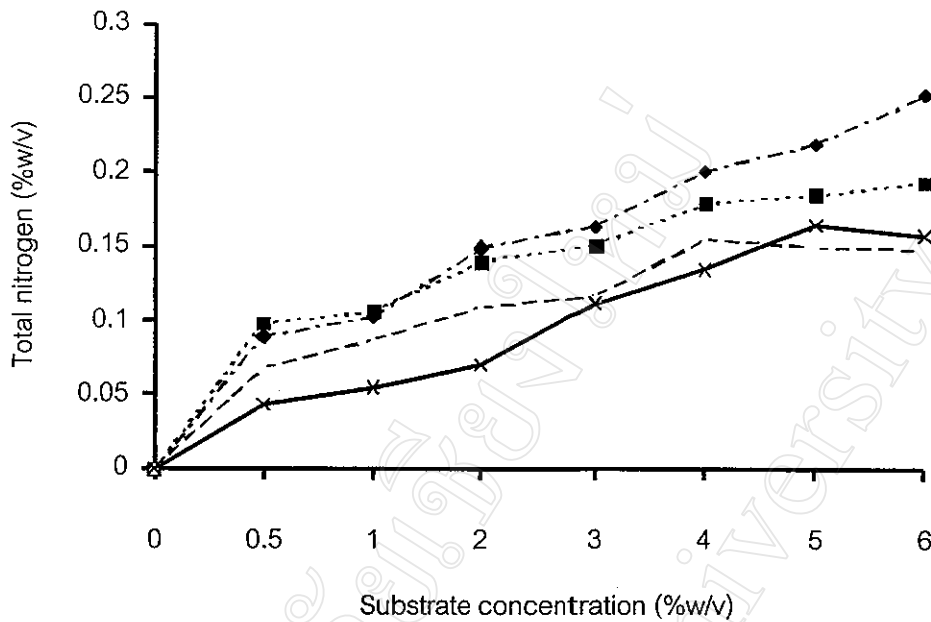
---◆--- F.N. papain ---■--- F.N. bromelain --- F.N. sp1 ---×--- F.N.sp2

เมื่อพิจารณาผลของการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยแป้งข้าวเดียวความเข้มข้นต่าง ๆ กัน โดยเอนไซม์โปรติเอสชนิดต่าง ๆ พบว่า การย่อยโปรตีนข้าวเดียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ และเริ่มคงที่ที่ความเข้มข้นแป้งข้าวเดียว 4 เปอร์เซ็นต์ และที่ความเข้มข้น 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลงเล็กน้อยแต่ก็ยังมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งค่าที่ได้จะอยู่ระหว่าง 0.14-0.15 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนข้าวเดียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงขึ้น และเริ่มคงที่ที่ความเข้มข้นแป้งข้าวเดียว 5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจะมีค่าอยู่ระหว่าง 0.15-0.16 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนข้าวเดียวด้วยเอนไซม์ปาเปนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีปริมาณสูงขึ้นเรื่อย ๆ ตามความเข้มข้นของ

แป้งถั่วเขียว โดยที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0, 0.08, 0.10, 0.15, 0.16, 0.20, 0.22 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ โบรมิเลนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดให้ผลคล้ายกับการย่อยโดยเอนไซม์ปาเปน โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีปริมาณสูงขึ้น ตามความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียว โดยที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0, 0.9, 0.10, 0.14, 0.15, 0.18, 0.18 และ 0.19 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ตารางที่ 3.7 แสดงปริมาณ total nitrogen ที่ได้จากการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอส เมื่อใช้แป้งถั่วเขียวปริมาณต่างๆ

Substrate concentration	Total nitrogen (%)			
	T.N. papain	T.N. Bromelain	T.N. sp1	T.N. sp2
0	0	0	0	0
0.5	0.08866	0.09800	0.06842	0.04333
1	0.10266	0.10596	0.08667	0.02509
2	0.14933	0.14000	0.10948	0.07070
3	0.16333	0.15082	0.11632	0.11176
4	0.20066	0.17911	0.15509	0.13457
5	0.21933	0.18510	0.14986	0.16422
6	0.25200	0.19325	0.14825	0.15738



รูปที่ 3.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า total nitrogen และความเข้มข้นของ
แป้งถั่วเขียว ในการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่าง ๆ

---◆--- T.N. papain ---■--- T.N. Bromelain ---- T.N. sp1 ---×--- T.N. sp2

จากผลของปริมาณฟอรัมาดิไฮต์ในโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 ที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 5 และ 6 เปอร์เซ็นต์ จะได้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ สายโพลีเปปไทด์และโปรตีนที่ได้คงที่โดยผลผลิตที่ได้จะมีปริมาณกรดอะมิโนอิสระและสายโพลีเปปไทด์และโปรตีนสูงกว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลน แต่จะน้อยกว่าการย่อยโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ได้ปริมาณผลผลิตคือ กรดอะมิโนอิสระ สายโพลีเปปไทด์ และโปรตีนสูงขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวและจะคงที่เมื่อความเข้มข้นแป้งถั่วเขียวเป็น 4 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาณผลผลิตจากการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระและโพลีเปปไทด์มากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบเอนไซม์โปรติเอสทั้ง 4 ชนิด การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนพบว่าปริมาณผลผลิตจะเริ่มคงที่ที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 3 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่จะเป็นโพลีเปปไทด์และโปรตีน เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่สูงกว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการ

ย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 แต่มีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนที่ต่ำกว่าการย่อยโดยเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2

ตารางที่ 3.8 อัตราส่วนระหว่าง formal nitrogen ต่อ total nitrogen ที่ได้จากการย่อยแป้งข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสเมื่อใช้แป้งข้าวเหนียวปริมาณต่างๆ

Substrate concentration	F.N./T.N.($\times 10^{-3}$)			
	Papain	Bromelain	sp1	sp2
0	0	0	0	0
0.5	8.540	7.496	10.501	16.323
1	8.195	11.579	13.026	48.216
2	5.258	9.766	13.750	28.066
3	7.2116	11.668	15.000	25.347
4	5.940	9.708	13.015	30.101
5	6.010	9.318	15.067	24.833
6	5.564	9.796	15.409	25.999

3.4.3 ผลของความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งข้าวเหนียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

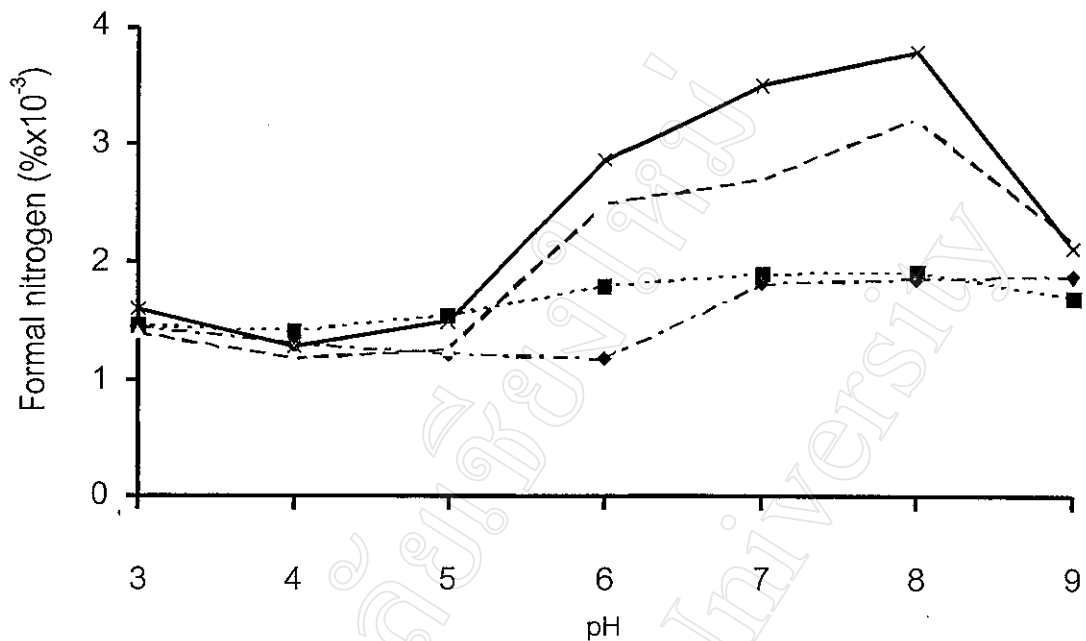
การย่อยแป้งข้าวเหนียวในสภาวะความเป็นกรดเบสโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ความเข้มข้น 150 ยูนิต เอนไซม์ปาเปน และโบรมิเลน ความเข้มข้น 100 ยูนิต ย่อยแป้งข้าวเหนียวความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรในบัฟเฟอร์ฟิเอชต่างๆกัน คือ 3, 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

ผลของความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งข้าวเหนียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ พบว่าการย่อยโปรตีนข้าวเหนียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะให้ปริมาณ ฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนต่ำในช่วงฟิเอชเป็นกรดคือที่ฟิเอช 3, 4 และ 5 แต่เมื่อฟิเอชสูงขึ้นคือที่ฟิเอช 6 7 และ 8 ความสามารถในการย่อยจะสูงขึ้นโดยสังเกตได้จากปริมาณฟอร์มาดิไฮด์จะสูงขึ้นมากและสูงที่สุดที่ฟิเอช 8 และเมื่อฟิเอชเป็นด่างสูงขึ้น การย่อยโดยเอนไซม์จะลดลงกว่าเดิมมาก การย่อยโปรตีนข้าวเหนียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนต่ำในช่วงฟิเอชเป็นกรดและย่อยได้ดีในช่วงฟิเอชเป็นด่างโดยให้ค่าปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนสูงที่สุดที่ฟิเอช 8 และย่อยได้ดีต่ำลงอย่าง

มากที่สุดที่พีเอช 9 ในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 นี้จะให้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงที่สุดในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวจากโปรติเอสทั้ง 4 ชนิด การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปน พบว่าที่พีเอช 3-6 จะมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนต่ำมากและเมื่อพีเอชสูงขึ้นคือที่พีเอช 7 ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะสูงขึ้น และค่าที่ได้จะคงที่ที่พีเอช 7-9 โดยมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนระหว่าง $1.81-1.87 \times 10^{-3}$ เปอร์เซนต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ โบรมิเลนปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะสูงขึ้นทีละน้อยเมื่อพีเอชสูงขึ้นและสูงที่สุดที่พีเอช 8 แต่เมื่อพีเอช 9 ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะลดลงประมาณ 0.2×10^{-3} เปอร์เซนต์

ตารางที่ 3.9 แสดงปริมาณ formal nitrogen ที่ได้จากผลการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในสภาพ กรดเบส แตกต่างกัน

pH	Formal nitrogen ($\% \times 10^{-3}$)			
	F.N. papain	F.N. bromelain	F.N. sp1	F.N. sp2
3	1.44431	1.45132	1.38614	1.59406
4	1.29708	1.40926	1.17822	1.28218
5	1.20785	1.54247	1.24753	1.49010
6	1.17789	1.79487	2.49505	2.86590
7	1.81591	1.89155	2.70297	3.49863
8	1.84395	1.91406	3.21584	3.78990
9	1.87200	1.69672	2.16624	2.11386



รูปที่ 3.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า formal nitrogen และ pH จากการย่อยแป้งข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

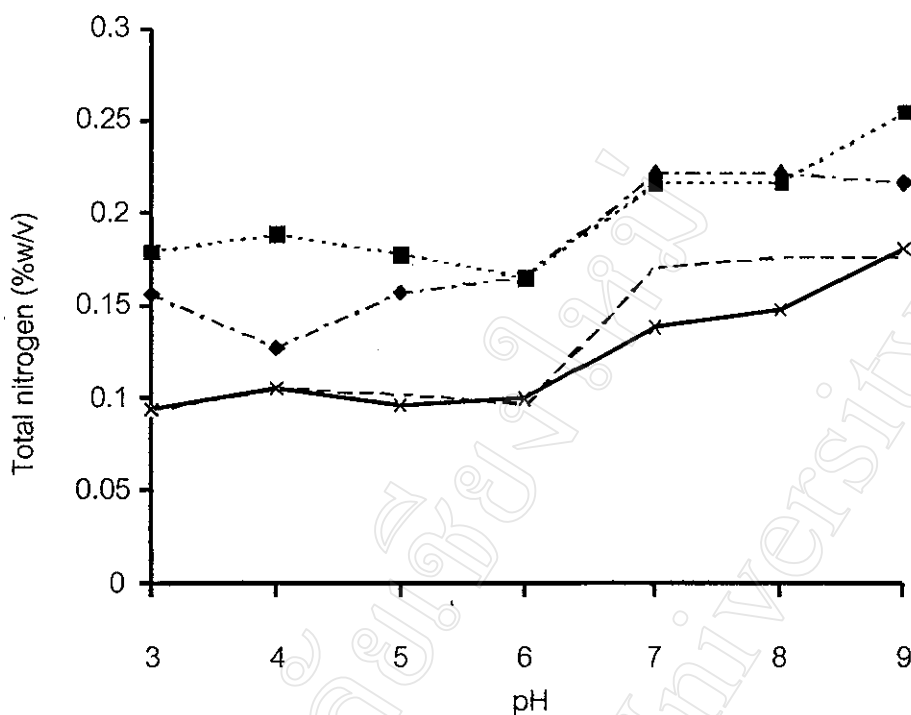
---◆--- F.N. papain ---■--- F.N. bromelain --- F.N. sp1 ---×--- F.N. sp2

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยแป้งข้าวเหนียวที่พีเอชต่าง ๆ พบว่า การย่อยโปรตีนแป้งข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำในช่วงพีเอชเป็นกรด ที่พีเอช 3, 4, 5 และ 6 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.09, 0.10, 0.10 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อพีเอชเป็นกลางคือ พีเอช 7 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นโดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.17 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณสูงที่สุดที่พีเอช 8 โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะคงที่ตั้งแต่พีเอช 7-9 โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.170-0.176 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนแป้งข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำในช่วงพีเอชเป็นกรดเช่นเดียวกับการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 โดยที่พีเอช 3, 4, 5 และ 6 จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.09, 0.10, 0.09 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่เมื่อพีเอชเป็นกลางและต่างปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นโดยที่พีเอช 7 และ 8 ค่าที่ได้จะใกล้เคียงกันโดยจะมีประมาณ

ไนโตรเจนทั้งหมด 0.138 และ 0.147 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ที่พีเอช 9 จะได้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุดคือมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.18 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ ปาเปน ในช่วงพีเอชต่ำคือ พีเอช 3-6 จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำ โดยที่พีเอช 3, 4, 5 และ 6 จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.15, 0.12, 0.15 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้น และคงที่ที่พีเอช 7 ซึ่งจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.21-0.22 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โบรมิเลนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในช่วงพีเอชเป็นกรดจะมีปริมาณต่ำ ที่พีเอช 3, 4, 5 และ 6 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.17, 0.18, 0.17 และ 0.16 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยมีปริมาณน้อยที่สุดที่พีเอช 6 และจะสูงขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงที่สุดที่พีเอช 9

ตารางที่ 3.10 แสดงปริมาณ total nitrogen ที่ได้จากผลการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในสภาพ กรดเบส แตกต่างกัน

pH	Total nitrogen (%)			
	T.N. papain	T.N. Bromelain	T.N. sp1	T.N. sp2
3	0.15554	0.17911	0.09359	0.09368
4	0.12726	0.18853	0.10479	0.10542
5	0.15707	0.17796	0.10235	0.09603
6	0.16497	0.16496	0.09688	0.09978
7	0.22153	0.21681	0.17003	0.13828
8	0.22153	0.21681	0.17650	0.14767
9	0.21681	0.25452	0.17599	0.18053



รูปที่ 3.9 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า total nitrogen และ pH จากการย่อยแป้งข้าวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

---◆--- T.N. papain ---■--- T.N. Bromelain ---- T.N. sp1 —×— T.N. sp2

จากผลของปริมาณฟอรัมาดิไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่าการย่อยโปรตีนข้าวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 พบว่า ผลผลิตที่ได้มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันโดยพีเอช 6, 7 และ 8 จะได้ผลผลิต กรดอะมิโนอิสระ โพลีเปปไทด์และโปรตีนในปริมาณที่สูงกว่าการย่อยโปรตีนข้าวด้วยปาเปนและโบรมิเลน และผลผลิตที่ได้ยังเป็นกรดอะมิโนอิสระและสายโพลีเปปไทด์สายสั้น ๆ ในปริมาณที่มากกว่าการย่อยโดยปาเปนและโบรมิเลนอีกด้วย การย่อยโปรตีนข้าวด้วยเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลน พบว่าผลผลิตที่ได้จะได้สายโพลีเปปไทด์ที่ยาวและเป็นโปรตีนเป็นส่วนใหญ่ เนื่องจากปริมาณฟอรัมาดิไฮด์ไนโตรเจนที่ต่ำและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่มีค่าสูงกว่าการย่อยโปรตีนข้าวจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จากการย่อยแป้งข้าวพบว่าการย่อยที่เหมาะสมในการย่อยอยู่ในช่วงระหว่างพีเอช 7 และ 8 เพราะให้ปริมาณฟอรัมาดิไฮด์ไนโตรเจนสูง

ตารางที่ 3.11 อัตราส่วนระหว่าง formal nitrogen ต่อ total nitrogen ที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเขียว ที่ pH ต่างๆด้วย เอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆ

pH	F.N./T.N. ($\times 10^{-3}$)			
	papain	Bromelain	sp1	sp2
3	9.286	8.103	17.811	17.016
4	10.192	7.475	11.244	12.162
5	7.690	8.668	12.189	15.517
6	7.140	10.881	25.754	28.722
7	8.197	8.724	15.897	25.301
8	8.324	8.828	18.220	25.665
9	8.634	6.666	12.309	11.709

3.4.4 ผลของอุณหภูมิในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

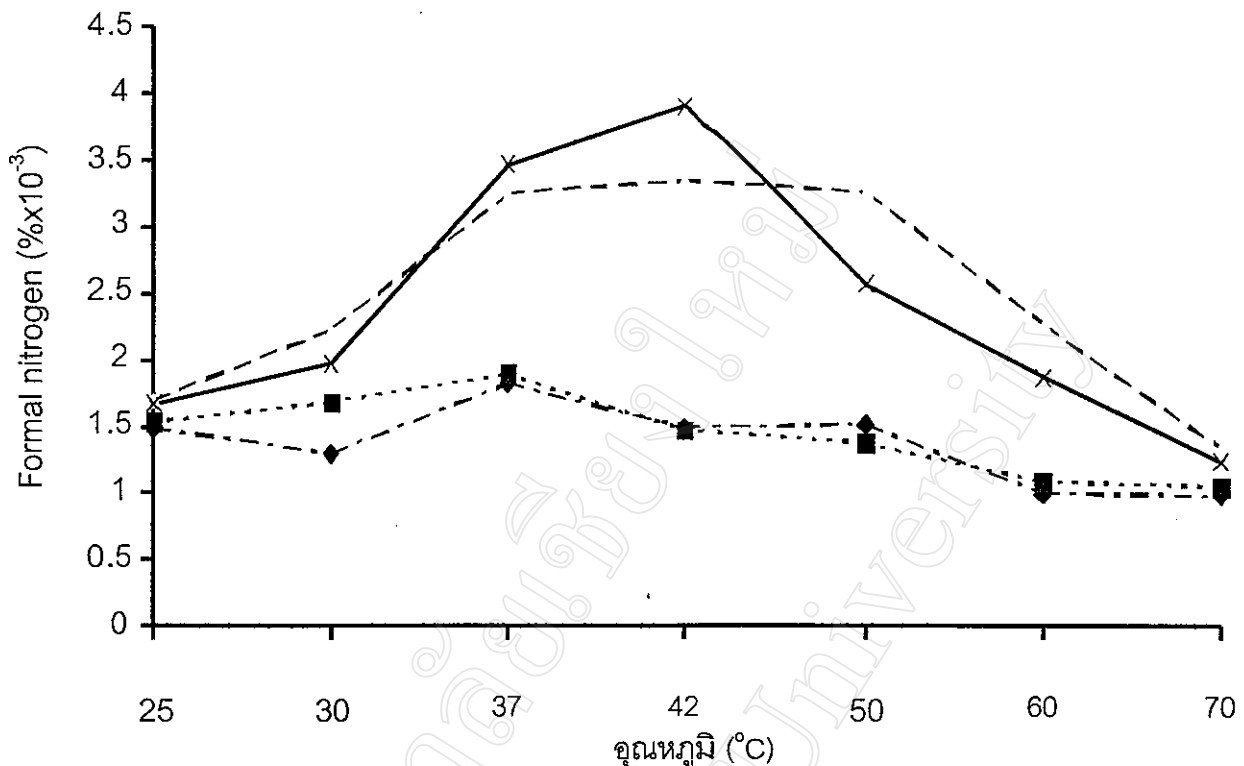
การย่อยแบ่งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 เข้มข้น 150 ยูนิต และใช้เอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลน เข้มข้น 100 ยูนิต สับสเตรพแบ่งถั่วเขียวความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 25, 30, 37, 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

ผลของอุณหภูมิในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ พบว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 มีปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการย่อยสูงขึ้น และมีค่าสูงสุดที่ 42 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส ปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนจะลดลง โดยในช่วงอุณหภูมิ 37, 42 และ 50 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนที่ได้จะมีปริมาณ 3.25 , 3.35 และ 3.26×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 มีปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นและสูงสุดที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจน 3.9×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ แต่ปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนจะลดลงเมื่ออุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสโดยมีปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจน 2.56 , 1.86 และ 1.23×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ปาเปนพบว่าปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจนสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีปริมาณฟอสฟาตีไฮดไนโตรเจน 1.82×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ และเมื่ออุณหภูมิสูง

ขึ้นปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะลดต่ำลงที่อุณหภูมิ 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจน 1.49, 1.15, 0.99 และ 0.98×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โบรมิเลนพบว่าปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสโดยมีค่าใกล้เคียงกับปาเปนมาก และปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะลดลงที่อุณหภูมิสูงขึ้นโดยปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนที่ 37, 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสจะมีปริมาณ 1.89, 1.47, 1.43, 1.08 และ 1.05×10^{-3} เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

ตารางที่ 3.12 แสดงปริมาณ formal nitrogen จากการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

Temperature(C)	Formal nitrogen ($\% \times 10^{-3}$)			
	F.N. papain	F.N. Bromelain	F.N. sp1	F.N. sp2
25	1.48638	1.52845	1.69672	1.66867
30	1.29708	1.68269	2.22957	1.96898
37	1.82292	1.89303	3.25321	3.46999
42	1.49339	1.47236	3.35136	3.90525
50	1.51442	1.37420	3.26022	2.56891
60	0.99559	1.08674	2.27164	1.86498
70	0.98157	1.05168	1.33914	1.23397



รูปที่ 3.10 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า formal nitrogen และอุณหภูมิในการย่อยแป้งด้วย

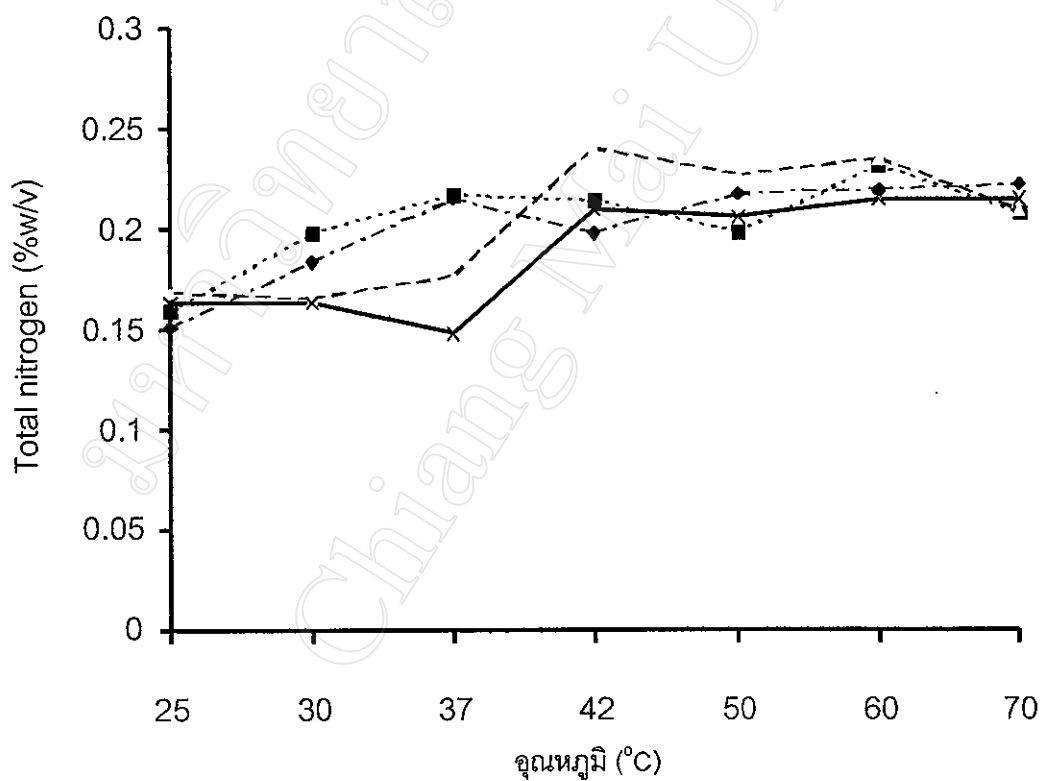
เชื้อราด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

—◆— F.N. papain —■— F.N. Bromelain - - - F.N. sp1 —×— F.N. sp2

ผลการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยแป้งด้วยเชื้อราโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะมีปริมาณน้อยที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส แต่มีปริมาณสูงขึ้นที่อุณหภูมิ 42, 50 และ 60 องศาเซลเซียส และลดต่ำลงที่ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.16, 0.16, 0.17, 0.24, 0.22, 0.23 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนด้วยเชื้อราโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นและคงที่ที่อุณหภูมิ 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.16, 0.16, 0.14, 0.21, 0.20, 0.21 และ 0.21 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนด้วยเชื้อราด้วยเอนไซม์ปาเปนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะค่อย ๆ สูงขึ้น และคงที่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดคงที่ในช่วง 0.19-0.21 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนด้วยเชื้อราด้วยเอนไซม์โบรมิเลนพบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีปริมาณสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะเริ่มคงที่ที่อุณหภูมิ 37 องศา โดยจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดคงที่ในช่วง 0.19-0.21 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.13 แสดงปริมาณ total nitrogen จากการย่อยแป้งข้าวเดียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

Temperature (°C)	Total nitrogen (%)			
	T.N. papain	T.N. Bromelain	T.N. sp1	T.N. sp2
25	0.15083	0.15898	0.16796	0.16333
30	0.18382	0.19796	0.16566	0.16333
37	0.21526	0.21681	0.17650	0.14767
42	0.19796	0.21414	0.24038	0.21000
50	0.21681	0.19796	0.22622	0.20533
60	0.21898	0.23095	0.23452	0.21467
70	0.22153	0.20739	0.20885	0.21467



รูปที่ 3.11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า total nitrogen และอุณหภูมิในการย่อยแป้งข้าวเดียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

--◆-- T.N. papain ···■··· T.N. Bromelain ---- T.N. sp1 —×— T.N. sp2

ตารางที่ 3.14 อัตราส่วนระหว่าง formal nitrogen ต่อ total nitrogen ที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเขียว ที่อุณหภูมิต่างๆกันด้วย เอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆ

Temperature (°C)	F.N./T.N. ($\times 10^{-3}$)			
	papain	Bromelain	sp1	sp2
25	9.855	9.614	10.102	10.216
30	7.056	8.500	13.459	12.055
37	8.468	8.731	18.432	23.498
42	7.544	6.876	13.942	18.596
50	6.985	6.942	14.412	12.511
60	4.546	4.705	9.686	8.688
70	4.431	5.071	6.412	5.748

จากผลของปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่าการย่อยโปรตีน ถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 ที่อุณหภูมิ 37, 42 และ 50 องศาเซลเซียส จะให้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโนอิสระ โพลีเปปไทด์ และโปรตีนในปริมาณมากกว่าที่อุณหภูมิอื่น และพบว่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะมีผลผลิตเป็นกรดอะมิโนอิสระและสายโพลีเปปไทด์สายสั้น ๆ มากกว่า ที่อุณหภูมิ 42 และ 50 องศาเซลเซียส การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีปริมาณผลผลิตกรดอะมิโนอิสระ โพลีเปปไทด์ และโปรตีนมากที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียส การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลนจะให้ผลคล้ายกันคือ อุณหภูมิที่ดีที่สุดในการย่อยคือ 37 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นการย่อยโปรตีนถั่วเขียวทำได้น้อยลง และผลผลิตที่ได้จะมีสายโพลีเปปไทด์ที่ยาวกว่าการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2

3.4.5 ผลของเวลาในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ

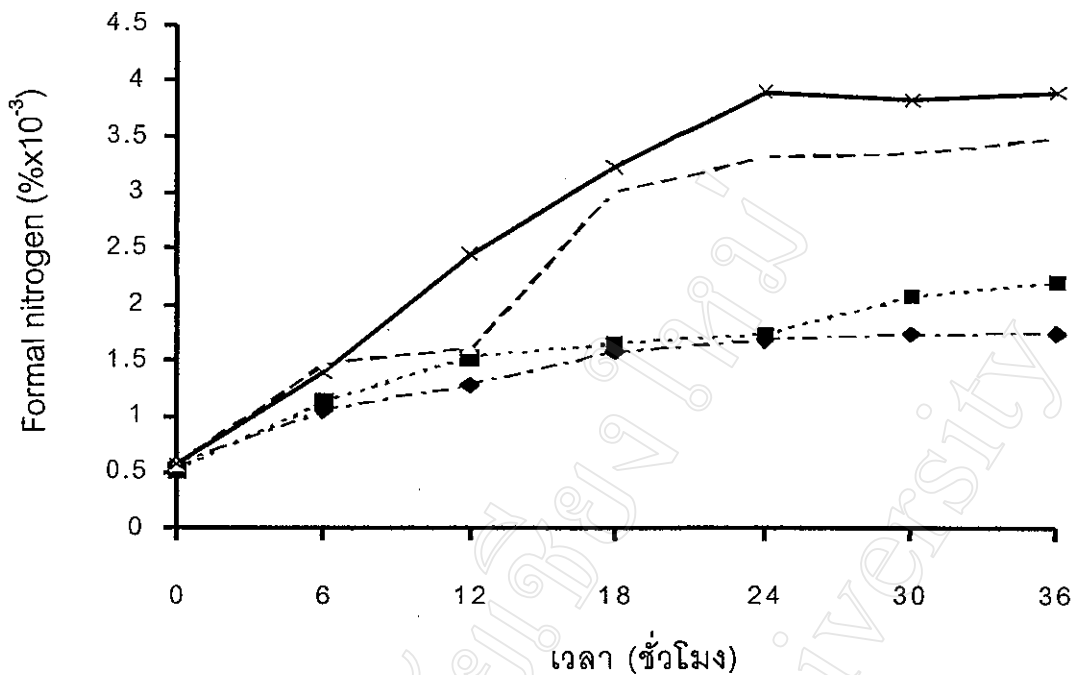
การย่อยแบ่งถั่วเขียวที่เวลาต่างๆกัน โดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ความเข้มข้น 150 ยูนิต และใช้เอนไซม์ปาเปน และโบรมิเลน ความเข้มข้น 100 ยูนิต ย่อยสับสเตรทแบ่งถั่วเขียวความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตรในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร พีเอช 8.0 โดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ย่อยที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส และเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนย่อยที่ 37 องศาเซลเซียส (จากผลการทดลองที่ 3.4.4) ที่เวลา 0, 6, 12, 18, 24, 30 และ 36 ชั่วโมงตามลำดับ

ผลของเวลาในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ พบว่าการย่อยโปรตีนถั่ว

เชื้อราโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนสูงขึ้นเรื่อย ๆ และมีค่าคงที่ที่เวลา 24 ชั่วโมงมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนคงที่ในช่วง $3.3-3.4 \times 10^{-3}$ เปอร์เซนต์ โดยปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะเริ่มเพิ่มอย่างช้า ๆ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 18 การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีแนวโน้มคล้ายกับการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 โดยปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงชั่วโมงที่ 24 และปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะคงที่และมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนคงที่ในช่วง $3.82-3.89 \times 10^{-3}$ เปอร์เซนต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปน พบว่าปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ และปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนจะคงที่ที่เวลา 30 ชั่วโมง และมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนคงที่ในช่วง $1.73-1.74 \times 10^{-3}$ เปอร์เซนต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีแนวโน้มในการย่อยคล้ายปาเปน แต่ที่ชั่วโมงที่ 30 และ 36 การย่อยโปรตีนถั่วเขียวสูงขึ้นโดยจะมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจน 2.07 และ 2.20×10^{-3} เปอร์เซนต์

ตารางที่ 3.15 แสดงปริมาณ formal nitrogen ในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในช่วงเวลาต่างกัน

Time (hr)	Formal nitrogen ($\% \times 10^{-3}$)			
	F.N. Papain (37° C)	F.N. Bromelain (37° C)	F.N. sp1 (42°C)	F.N. sp2 (42°C)
0	0.57492	0.52584	0.56090	0.56984
6	1.05168	1.12881	1.46534	1.38822
12	1.28305	1.53546	1.61258	2.45223
18	1.57752	1.65449	3.00098	3.22599
24	1.68269	1.73878	3.32333	3.89775
30	1.73878	2.07532	3.34880	3.82670
36	1.74579	2.20152	3.48670	3.88930



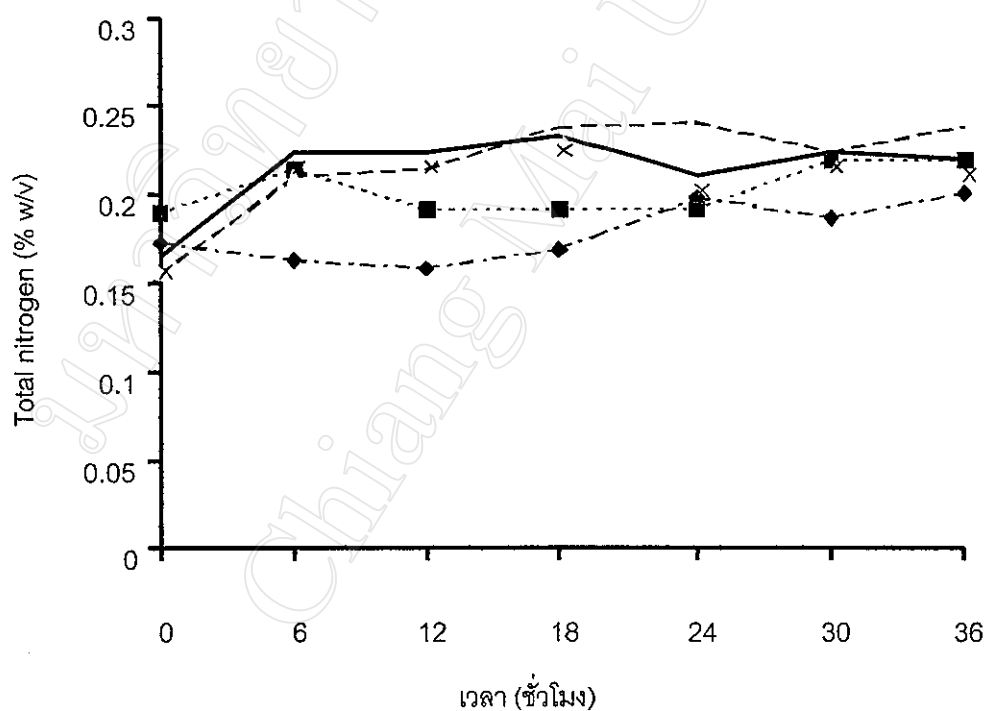
รูปที่ 3.12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า formal nitrogen และเวลาในการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

---◆--- F.N. Papain (37° C) ---■--- F.N. Bromelain (37° C)
 --- F.N. sp1 (42° C) ---×--- F.N. sp2 (42° C)

ผลของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิดต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ กัน พบว่าการย่อยโปรตีนแป้งด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะทำให้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นและคงที่ที่เวลา 18 ชั่วโมง โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะคงที่ที่ อยู่ระหว่าง 0.22-0.24 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนแป้งด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 พบว่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะคงที่ที่เวลา 6 ชั่วโมง โดยปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะคงที่ อยู่ในช่วง 0.21-0.23 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนแป้งด้วยเอนไซม์ ปาเปน จะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเวลาผ่านไป ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่เวลาต่างๆจะอยู่ในช่วง 0.16-0.20 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนจะมีปริมาณน้อยที่สุดในเกือบทุกช่วงเวลา เมื่อเทียบกับการย่อยด้วยเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 และเอนไซม์โบรมิเลน การย่อยโปรตีนแป้งด้วยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดค่อนข้างคงที่ และเมื่อเวลา 30 และ 36 ชั่วโมง ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นเล็กน้อยเป็น 0.22 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 3.16 แสดงปริมาณ Total nitrogen จากผลของเวลาในการย่อยแบ่งเนื้อเยื่อด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ

Time (hr)	Total nitrogen (%)			
	T.N. papain	T.N. Bromelain	T.N. sp1	T.N. sp2
0	0.17267	0.18956	0.15587	0.16524
6	0.16267	0.21466	0.21000	0.22400
12	0.15867	0.19133	0.21466	0.22400
18	0.16895	0.19133	0.23800	0.23333
24	0.19796	0.19146	0.24038	0.21000
30	0.18666	0.21933	0.22400	0.22400
36	0.20060	0.21933	0.23800	0.21933



รูปที่ 3.13 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า total nitrogen และเวลาในการย่อยแบ่งเนื้อเยื่อด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่างๆ

--♦-- T.N. papain ···■··· T.N. Bromelain - - - T.N. sp1 —×— T.N. sp2

ตารางที่ 3.17 อัตราส่วนระหว่าง formal nitrogen ต่อ total nitrogen ที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเขียว
ที่เวลาต่างๆกันด้วย เอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆ

Time (hr)	F.N./T.N. ($\times 10^{-3}$)			
	papain	Bromelain	sp1	sp2
0	3.329	2.774	3.598	3.448
6	6.465	5.259	6.978	6.197
12	8.086	8.025	7.512	10.947
18	9.337	8.647	12.609	13.826
24	8.500	9.082	13.825	18.561
30	9.315	9.462	14.950	17.083
36	8.703	10.037	14.650	17.733

จากผลของปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่า การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะใช้เวลาสั้นที่สุดและให้ผลผลิตกรดอะมิโนอิสระ โพลีเปปไทด์สายสั้น ๆ และโปรตีนมากที่สุดคือ 24 ชั่วโมง และการย่อยโปรตีนจากแบ่งถั่วเขียวโดยใช้เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะทำได้ดีกว่าการย่อยโดยเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลน ซึ่งในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลนใช้เวลาสั้นที่สุดที่ได้ปริมาณผลผลิตดีที่สุดคือ 24 และ 30 ชั่วโมงตามลำดับ ในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลน จะได้ผลผลิตเป็นสายโพลีเปปไทด์และโปรตีนที่มีลักษณะใหญ่กว่าการย่อยโดยเอนไซม์จากเชื้อ ซึ่งดูได้จากปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนที่น้อยกว่าและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ใกล้เคียงกัน

3.5 ผลการเปรียบเทียบการย่อยแบ่งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์และกรด

การเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยแบ่งถั่วเขียวของเอนไซม์กับกรด โดยทำการหาปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเขียวด้วยกรด โดยให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเขียวด้วยกรดเป็นการย่อยสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ที่ความเข้มข้นแบ่งถั่วเขียวเดียวกันกับการย่อยแบ่งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ โดยทำการเปรียบเทียบมาเป็นเปอร์เซ็นต์การย่อยที่ได้ออกมา ซึ่งการเปรียบเทียบนี้จะทำให้ทราบถึงความสามารถในการย่อยของเอนไซม์เป็นกี่เปอร์เซ็นต์

ของกรด แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระ สายเปปไทด์ หรือปริมาณโปรตีนที่ออกมาจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์มากน้อยเท่าไร

3.5.1 ผลการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในการย่อยแบ่งถั่วเขียวต่อการย่อยด้วยกรด

จากการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ในการย่อยแบ่งถั่วเขียวต่อการย่อยด้วยกรด ณ ความเข้มข้นของแบ่งถั่วเขียวเดียวกัน พบว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้สูงสุดประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ โดยความเข้มข้นเอนไซม์ต่ำสุดที่ย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้มากที่สุดคือ 150 ยูนิต การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้สูงที่สุดที่ 70 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับการย่อยสลายด้วยกรดที่ความเข้มข้นแบ่งถั่วเขียวเท่ากัน โดยความเข้มข้นเอนไซม์ต่ำที่สุดที่ย่อยถั่วเขียวได้มากที่สุดคือ 150 ยูนิต การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนจะมีความสามารถในการย่อยโปรตีนสูงสุดที่ 38 เปอร์เซ็นต์ ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 ยูนิต แต่เอนไซม์จะมีความสามารถในการย่อยเพิ่มขึ้นน้อยมากตั้งแต่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50 ยูนิต การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวต่ำอยู่ในช่วง 12-20 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการย่อยจะเริ่มคงที่เมื่อความเข้มข้นเอนไซม์มีค่า 25 ยูนิต

ตารางที่ 3.18 การเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในการย่อยแบ่งถั่วเขียวต่อการย่อยด้วยกรด

Unit enzyme	Relative hydrolysis (%)			
	Papain	Bromelain	Sp1	Sp2
0	5.77	5.91	5.79	5.99
25	21.31	20.13	11.30	42.16
50	33.14	18.99	12.43	52.83
75	35.29	18.07	16.40	55.90
100	36.37	21.78	23.40	58.68
150	38.39	18.99	37.35	69.82
200	32.87	22.70	36.23	68.54
250	32.66	18.53	37.39	70.74

3.5.2 ผลการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวในการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

จากการเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวในการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรดพบว่า การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีความสามารถในการย่อยลดลงเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้น โดยความสามารถการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะสูงกว่าเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลน แต่น้อยกว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 การย่อยโปรตีนจากถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูง เมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวจะลดลง การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนจะมีความสามารถในการย่อยต่ำที่สุดโดยเมื่อความเข้มข้นของสับสเตรท 2 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการย่อยจะลดลงจากความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 1 เปอร์เซ็นต์ถึง 40 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลน จะมีความสามารถในการย่อยต่ำโดยจะมีความสามารถในการย่อยอยู่ระหว่าง 20-30 เปอร์เซ็นต์ โดยความสามารถในการย่อยจะลดลงตามความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียว

ตารางที่ 3.19 การเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวในการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

Substrate concentration	Relative hydrolysis (%)			
	Papain	Bromelain	Sp1	Sp2
0.5	100	100	100	100
1	69.49	100	93.26	85.06
2	32.43	56.47	62.17	81.96
3	32.43	48.47	48.04	78.00
4	24.61	35.91	41.68	83.65
5	21.78	28.49	37.30	67.37
6	19.30	26.06	31.45	56.33

3.5.3 การเปรียบเทียบผลของความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

จากการเปรียบเทียบผลของความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด โดยให้การย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเป็นการย่อยสลายสมบูรณ์ และทำการเปรียบเทียบปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์กับปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากกรด เพื่อดูความสามารถในการย่อยที่ได้เปรียบเทียบกับกรดย่อยด้วยกรด พบว่าในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีความสามารถในการย่อยสูงขึ้นเมื่อพีเอชเป็น 6, 7 และ 8 โดยจะย่อยได้ 41.22, 44.65 และ 53.13 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ที่พีเอช 9 ความสามารถในการย่อยจะลดลงเหลือ 35.79 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูงที่สุดโดยย่อยได้สูงที่พีเอช 6, 7 และสูงที่สุดที่พีเอช 8 โดยมีความสามารถในการย่อย 47.35, 57.80 และ 62.61 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ที่พีเอช 9 ความสามารถในการย่อยจะต่ำลงมากเหลือ 34.92 เปอร์เซ็นต์ ความสามารถในการย่อยโปรตีนจากถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะมีแนวโน้มที่เหมือนกัน การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปนจะมีความสามารถในการย่อยต่ำ และที่พีเอชสูงขึ้นคือพีเอช 7, 8 จะมีความสามารถในการย่อยสูงขึ้น แต่ที่พีเอช 9 ความสามารถในการย่อยจะต่ำลง การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีความสามารถในการย่อยสูงขึ้นเมื่อพีเอชสูงขึ้น โดยมีความสามารถในการย่อยสูงสุดที่พีเอช 8 คือ 31.62 เปอร์เซ็นต์ แต่จะต่ำลงเมื่อพีเอชเป็น 9 ความสามารถในการย่อยเหลือเพียง 28.03 เปอร์เซ็นต์ แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลนซึ่งเป็นเอนไซม์จากพืชจะมีความสามารถในการย่อยต่ำกว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ซึ่งเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์

ตารางที่ 3.20 การเปรียบเทียบผลของความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งข้าวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

pH	Relative hydrolysis (%)			
	Papain	Bromelain	Sp1	Sp2
3	23.86	23.98	22.90	26.34
4	21.43	23.28	19.46	21.18
5	19.95	25.48	20.61	24.62
6	19.46	29.65	41.22	47.35
7	30.00	31.25	44.65	57.8
8	30.46	31.62	53.13	62.61
9	30.95	28.03	35.79	34.92

3.5.4 การเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการย่อยแป้งข้าวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

การเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการย่อยแป้งข้าวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรด โดยการให้การย่อยแป้งข้าวด้วยกรดเกลือเข้มข้นเป็นการย่อยสมบูรณ์ และนำปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้มาเปรียบเทียบกับปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการย่อยแป้งข้าวที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์ เป็นการเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายแป้งข้าวของเอนไซม์เทียบต่อกกรด พบว่าในการย่อยโปรตีนข้าวโดยเอนไซม์โปรตีนเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีความสามารถในการย่อยสูงที่อุณหภูมิ 37, 42 และ 50 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียสความสามารถในการย่อยจะลดลง โดยที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียสความสามารถในการย่อยแป้งข้าวจะเหลือ 37.53 และ 22.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนข้าวโดยเอนไซม์โปรตีนเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูงที่อุณหภูมิ 37 และ 42 องศาเซลเซียสโดยความสามารถในการย่อยจะสูงสุดที่ 42 องศาเซลเซียสย่อยได้ 64.52 เปอร์เซ็นต์ และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความสามารถในการย่อยจะลดน้อยลงที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส จะมีความสามารถในการย่อย 42.44, 30.81 และ 20.39 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนข้าวโดยเอนไซม์ปาเปน พบว่ามีความสามารถในการย่อยโปรตีนข้าวสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ย่อยได้ 30.12 เปอร์เซ็นต์ และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความสามารถในการย่อยจะลดลงที่อุณหภูมิ 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสจะมีความสามารถในการย่อย 24.67, 25.02, 16.45 และ

16.22 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีความสามารถในการย่อยสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสย่อยได้ 31.27 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการย่อยจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นที่อุณหภูมิ 42, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสความสามารถในการย่อยจะได้ 24.32, 22.70 17.95 และ 17.37 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ พบว่าในทุกอุณหภูมิความสามารถในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ซึ่งเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์มีความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวสูงกว่าเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลนซึ่งเป็นเอนไซม์จากพืช

ตารางที่ 3.21 การเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

Temp(°C)	Relative hydrolysis (%)			
	Papain	Bromelain	Sp1	Sp2
25	24.56	25.25	28.03	27.57
30	21.43	27.79	36.83	32.53
37	30.12	31.27	53.75	57.33
42	24.67	24.32	55.37	64.52
50	25.02	22.70	53.86	42.44
60	16.45	17.95	37.53	30.81
70	16.22	17.37	22.12	20.39

3.5.5 ผลการเปรียบเทียบผลของเวลาในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

จากการเปรียบเทียบผลของเวลาในการย่อยแบ่งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยด้วยกรด โดยให้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการย่อยแบ่งถั่วเป็นการย่อยสมบูรณ์ 10 เปอร์เซ็นต์และนำปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสชนิดต่างๆมาเปรียบเทียบ เป็นความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยแบ่งถั่วเขียวต่อการย่อยด้วยกรด พบว่าในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีความสามารถในการย่อยเริ่มคงที่ที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อเวลานานขึ้นความสามารถในการย่อยจะเพิ่มขึ้นน้อยมาก โดยความสามารถในการย่อยจะคงที่ในช่วง 55-57 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจาก

เชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูงโดยระยะเวลาสั้นที่สุดที่ความสามารถในการย่อยสูงที่สุดคือ 24 ชั่วโมงย่อยได้ 64.39 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อเวลานานขึ้นความสามารถในการย่อยจะคงที่ในช่วง 63-64 เปอร์เซ็นต์ การย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปน จะมีความสามารถในการย่อยต่ำโดยความสามารถในการย่อยจะคงที่ที่เวลา 18 ชั่วโมงมีค่าอยู่ในช่วง 26-28 เปอร์เซ็นต์ และการย่อยโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โบรมิเลนจะมีความสามารถในการย่อยต่ำเช่นเดียวกับเอนไซม์ปาเปน โดยความสามารถในการย่อยจะสูงที่สุดที่เวลา 36 ชั่วโมงจะมีค่า 36.37 เปอร์เซ็นต์ จากการเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวระหว่างเอนไซม์โปรตีนเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 กับเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนพบว่าเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะมีความสามารถในการย่อยที่สูงกว่า แต่ใช้เวลานานกว่าเล็กน้อย

ตารางที่ 3.22 การเปรียบเทียบผลของเวลาในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ต่อการย่อยด้วยกรด

Time	Relative hydrolysis (%)			
	Papain	Bromelain	Sp1	Sp2
0	9.49	8.69	9.27	9.41
6	17.37	18.65	24.21	22.93
12	21.19	25.37	26.64	40.51
18	26.06	27.33	49.58	50.30
24	27.80	28.73	55.05	64.39
30	28.73	34.29	55.32	63.22
36	28.84	36.37	57.60	64.26

3.6 ผลการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวในสภาวะที่เหมาะสมในปริมาตร 3 ลิตร

การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวในสภาวะที่เหมาะสมปริมาตร 3 ลิตร โดยใช้แป้งถั่วเขียวความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เอนไซม์โปรตีนเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ความเข้มข้น 150 ยูนิตต่อปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง

จากการศึกษาการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ ในข้อ 3.5 ซึ่งทำในปริมาตร 50 มิลลิลิตร และทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสม โดยเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุดคือเอนไซม์

โปรตีนจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวมาทำการขยายขนาดการย่อยในปริมาตร 3 ลิตร พบว่าปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการขยายปริมาตรมีน้อยกว่าการย่อยในปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจน 2.77×10^{-3} เปอร์เซนต์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.20 เปอร์เซนต์ ซึ่งที่สภาวะเดียวกันในปริมาตร 50 มิลลิลิตรจะมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจน 3.89×10^{-3} เปอร์เซนต์ และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.21 เปอร์เซนต์ อาจเนื่องมาจากปัญหาในการกระจายตัวของแป้งถั่วเขียวในสารละลาย เพราะเมื่อปริมาตรมากขึ้นแป้งถั่วเขียวส่วนหนึ่งจะตกตะกอนลงสู่ก้นภาชนะและในการขยายปริมาตรทำให้การเขย่าภาชนะให้สารละลายผสมกันทำได้ยากกว่าในปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำให้เอนไซม์ย่อยโปรตีนถั่วเขียวไม่ทั่วถึง เมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่า ผลผลิตที่ได้จะมีสายโพลีเปปไทด์ที่ค่อนข้างยาวกว่าการย่อยในสเกลเล็กและมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนน้อยกว่าถึง 1.12×10^{-3} เปอร์เซนต์ จึงมีข้อเสนอแนะว่าในการขยายปริมาตรการย่อยถ้ามีการกวนที่สม่ำเสมออาจจะช่วยให้เอนไซม์เข้าย่อยสลายได้ดีขึ้น

ตารางที่ 3.23 ผลการย่อยแป้งถั่วเขียวในขนาดปริมาตร 3 ลิตร

การทดสอบ	ค่าที่ได้
Formal nitrogen ($\times 10^{-3}$)	2.77654
Total nitrogen	0.20533

3.7 ผลการทำเข้มข้นผลผลิตที่ได้จากการขยายปริมาตร

การทำเข้มข้นผลผลิตที่ได้จากการขยายปริมาตร จากข้อ 3.6 โดยการระเหยสารละลายที่ได้จากการย่อย ทำการระเหยน้ำออก 20, 40, 60 และ 80 เปอร์เซนต์ตามลำดับ และนำมาหาปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจน และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

การนำผลผลิตที่ได้จากข้อ 3.6 มาทำการเปรียบเทียบกับปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้น พบว่าปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้จากการขยายสเกลมีปริมาณน้อยกว่าการย่อยโดยกรดเกลือ และเมื่อนำผลผลิตที่ได้มาทำเข้มข้นโดยการระเหยจะทำให้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนที่ได้เข้มข้นขึ้นเป็นสัดส่วนกับปริมาตรสารที่ถูกระเหยออกไป พบว่าต้องระเหยสารละลายออกไปมากกว่า 60 เปอร์เซนต์ จึงจะทำให้ได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ในโตรเจนใกล้เคียง

เคียงกับปริมาณฟอรัมาดิไฮต์ไนโตรเจนที่ได้จากการย่อยโดยกรดเกลือเข้มข้น จะเห็นได้ว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้โดยอาศัยการระเหยเข้าช่วยจะทำให้คุณค่าของผลผลิตสูงขึ้นได้และมีค่าใกล้เคียงกับการย่อยสลายแบ่งตัวเร็วด้วยกรดเกลือเข้มข้น แต่เมื่อพิจารณา การนำปริมาณฟอรัมาดิไฮต์ไนโตรเจนมาเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่า เมื่อทำเข้มข้นผลผลิตมากขึ้นจะทำให้อัตราส่วนของ ฟอรัมาดิไฮต์ไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลง นั้นแสดงให้เห็นว่าเมื่อทำเข้มข้นผลผลิตสูงขึ้นจะทำให้ความเข้มข้นของสายเปปไทด์ที่ยาว และมีโปรตีนสูงขึ้นด้วย โดยมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ซึ่งถ้าต้องการให้ได้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโนอิสระ และสายเปปไทด์สั้นๆ ต้องคำนึงถึงอัตราส่วนตรงนี้ด้วย

ตารางที่ 3.24 ผลการทำเข้มข้นสารละลายที่ได้จากการย่อยแบ่งตัวเร็วด้วยเอนไซม์ที่เหมาะสมโดยการระเหย

เปอร์เซ็นต์สารที่ระเหยออกไป	Formal nitrogen	Total nitrogen	FN/TN
0%	0.002776	0.2053	0.013524
20%	0.003401	0.2613	0.013016
40%	0.004705	0.3266	0.014407
60%	0.005044	0.5040	0.010008
80%	0.007566	0.9380	0.008066