บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การหาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียว

จากการหาองค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียวที่ทำการสกัดไขมันออกแล้ว (ผลการทดลองที่ 3.2) พบว่าแป้งถั่วเขียวยังคงมีปริมาณไขมันเหลืออยู่ภายหลังจากการสกัด โดยการใช้ continuous soxhlet extration apparatus และใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย องค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียวมีปริมาณไขมัน 0.30 เปอร์เซนต์ ปริมาณคาร์โบไฮเดรท 61.74 เปอร์เซนต์ ปริมาณเส้นใย 0.16 เปอร์เซนต์ ปริมาณเถ้า 3.07 เปอร์เซนต์ ปริมาณโปรตีน 25.12 เปอร์เซนต์ และปริมาณความชื้น 9.61 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของแป้งถั่วเขียวซึ่งรายงานโดย อรอนงค์ นัยวิกุล(2526) พบว่าปริมาณไขมันลดลงมากเหลือเพียง 0.3 เปอร์เซนต์ ซึ่งจะทำให้การศึกษาการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวทำได้ดีขึ้น เพราะไขมันในตัวอย่างโปรตีนจะขัดขวางการทำปฏิกิริยาการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรติเอส (Nakadai T. and Nasuno S., 1972) คาร์โบไฮเดรตในแป้งถั่วเขียวที่ทำการขจัดไขมันมีปริมาณน้อยกว่าข้อมูลของ อรอนงค์และคณะ(2531) โดยมีปริมาณคาร์โบไฮเดรท 61.74 เปอร์เซนต์ในขณะที่ อรอนงค์และคณะ(2531) ได้ปริมาณคาร์โบโฮเดรท 62.5-64.6 เปอร์เซนต์ การที่ปริมาณคาร์โบไฮเดรทน้อยกว่าปกติเป็นเพราะ ในการสกัดไขมันในแป้งถั่วเขียวออกใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย Naczk M.และคณะ(1992) พบว่าน้ำตาลโมเลกุลเล็ก จะถูกสกัดออกจากเมล็ดถั่วเหลือง ถั่วเขียว และเมล็ดฝ้ายที่ใช้ hexane เป็นตัวทำละลายได้ โดยน้ำตาลในเมล็ดถั่วตัวอย่างสามารถละลายออกมากับ hexane ได้ถึง 4.79-12.12 เปอร์เซนต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ดพืชที่ถูกสกัด และวิธีที่ใช้ในการสกัดด้วย ส่วนปริมาณเส้นใยในแป้งถั่วเขียวที่ขจัดไขมันออกมีปริมาณ 0.16 เปอร์เซนต์ ซึ่งมีปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับถั่วเขียวที่ยังไม่ได้ทำการสกัดไขมัน เป็นเพราะวิธีในการหาปริมาณเส้นใยต่างกันจะทำให้ค่าที่ได้เปลี่ยนแปลงไปได้เล็กน้อย (ลักษณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2536) ซึ่งโดยทั่วไปถั่วเขียวทั้งเมล็ดจะมีปริมาณเส้นใย 3-8 เปอร์เซนต์(AVRDC,1975) แต่การศึกษานี้ใช้ถั่วเขียวกระเทาะเปลือก ซึ่งจะทำให้ปริมาณเส้นใยบางส่วนสูญเสียไปได้ เพราะเปลือกของเมล็ดถั่วเขียวมีส่วนประกอบหลักเป็นเส้นใยได้แก่ เซลลูโลส ลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส จากองค์ประกอบทางเคมีของถั่วเขียวที่สกัดไขมันออกแล้วจะเห็นว่าคุณค่าทางอาหารของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นจากเดิมเล็กน้อย อีกทั้งยังสามารถใช้ในการศึกษาการย่อยสลายโปรตีนจากแป้งถั่วเขียวได้ดียิ่งขึ้น

4.2 การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้น

จากการศึกษาการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้น (ผลการทดลองที่ 3.3) และหาปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจน พบว่าในสารละลายที่ได้จากการย่อยสลายมีปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนสูงขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียว โดยที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เปอร์เซนต์มีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจน 0.61, 1.21, 2.42, 3.63, 4.84, 6.06 และ$7.26x10^{-3}$ เปอร์เซนต์ตามลำดับ ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นจะมีปริมาณโปรตีน ภายในองค์ประกอบของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นด้วย ทำให้ค่าของฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจากการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้นมีค่าสูงขึ้นตามความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียว โดยการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้นนี้ จะได้สารละลายสีดำ มีกลิ่นฉุนแต่การย่อยสลายโปรตีนด้วยกรดนี้ จะทำให้กรดอะมิโนบางชนิดเปลี่ยนแปลงไป โดยกรดอะมิโนทริปโตเฟน (Tryptophan) จะถูกทำลาย และกรดอะมิโน asparagine และ glutamine จะเปลี่ยนไปเป็น aspartate และ glutamate (วิเชียร ลีลาวัชระมาศ, 2522) ซึ่งจะทำให้ผลผลิตที่ได้มีกลิ่นฉุน อีกทั้งการย่อยสลายโปรตีนจากถั่วเขียวโดยกรดเกลือเข้มข้นจะใช้สภาวะรุนแรงในการทำปฏิกิริยาคือใช้อุณหภูมิสูง สารเคมีที่ใช้มีอันตราย ซึ่งในทางอุตสาหกรรมต้องลงทุนสูงและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้จะมีอายุการใช้งานสั้น เพราะโดนกัดกร่อนได้มาก ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาสั้นและได้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระและสายเปปไทด์เส้นสั้น ๆ ในปริมาณมากก็ตาม (ไพบูลย์ สุเมธาอักษร, 2521)

4.3 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์จากแหล่งต่าง ๆ

จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากแหล่งต่าง ๆ ได้แก่ ปาเปน และโบรมิเลน เป็นเอนไซม์จากพืช เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนถั่วเขียว และตรวจสอบปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจน เพื่อวัดปริมาณของโปรตีน สายเปปไทด์ และกรดอะมิโนในสารละลายทั้งหมด และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารละลาย เพื่อใช้เปรียบเทียบกับผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ซึ่งถ้ามีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมาก แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโปรตีนจะสามารถย่อยสลายโปรตีนให้มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และสายเปปไทด์สั้นๆได้มาก ซึ่งเป็นผลดีในการใช้ประโยชน์จากเอนไซม์โปรติเอสในการย่อยสลายโปรตีน(Nakadai, T. and Nasuno, S.,1971)

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ต่อการย่อยแป้งถั่วเขียว พบว่าเอนไซม์โปรติเอสแต่ละชนิดมีความสามารถในการย่อยโปรตีนที่ความเข้มข้นเอนไซม์ต่าง ๆ กัน โดยที่ความเข้มข้นถั่วเขียว 5 เปอร์เซนต์ เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะสามารถย่อยโปรตีนจากถั่วเขียวได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนสูงสุด ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 ยูนิต ในขณะที่

เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะย่อยโปรตีนจากถั่วเขียวได้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนใกล้เคียงกับเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลน เอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลนจะย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้น้อยมาก โดยเอนไซม์ปาเปนจะย่อยได้สูงสุดที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50 ยูนิต และเอนไซม์ โบรมิเลนจะย่อยได้สูงสุดที่ 25 ยูนิต และเมื่อเปรียบเทียบกับผลของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะย่อยโปรตีนถั่วเขียวให้ปริมาณของกรดอะมิโนอิสระและสายเปปไทด์สั้น ๆ ที่ความเข้มข้นเอนไซม์สูงสุดได้มากกว่าการย่อยโปรตีนถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ปาเปน และโบรมิเลน เป็นเพราะเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลนเป็น endopeptidase ในขณะที่เอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 มีคุณสมบัติเป็นทั้ง endopeptidase และ exopeptidase และมีจุดตัดที่ไม่จำเพาะเจาะจงเท่าเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน ซึ่งเป็น cysteine protease (โชคชัย มนต์ประสาธน์, 2526) อีกทั้งยังพบว่าโปรตีนจากพืชตระกูลถั่วจะมีคุณสมบัติเป็น trypsin inhibitors ซึ่งสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่ม endopeptidase ได้หลายชนิดอีกซึ่งได้แก่ เอนไซม์ไครโมทริปซิน (Chymotrypsin) เอนไซม์ทริปซิน(Trypsin) เป็นต้น (Botella A. et al, 1996) และคุณสมบัติ exopeptidase ของเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และsp2นี้เองที่ย่อยสลายเปปไทด์จากปลายด้านนอก ซึ่งจะให้ปริมาณกรดอะมิโน โปรตีน และสายเปปไทด์สั้น ๆ ออกมามาก ทำให้มีปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนสูงกว่า การย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปน และโบรมิเลน (Nakadia T. and Nasuno S., 1972)

การศึกษาความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวต่อการย่อยโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (ผลการทดลองที่ 3.4.2.1) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นถึงระดับหนึ่งจะทำให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนที่ได้จากการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวมีปริมาณคงที่ การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนสูงที่สุด โดยมีปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนสูงกว่าการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ปาเปนและ เอนไซม์โบรมิเลน ถึงครึ่งหนึ่ง ในขณะที่การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวจากเชื้อ *Aspergillus* sp1ให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนที่สูงกว่าการย่อยสลายโดยเอนไซม์ปาเปนและเอนไซม์โบรมิเลนเล็กน้อย และพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้ (ผลการทดลองที่ 3.4.2) พบว่า การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะให้ปริมาณของกรดอะมิโน สายเปปไทด์สั้นๆ มากกว่าการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ปาเปน และเอนไซม์โบรมิเลน Nakadai T. and Nasuno S.(1976) ได้ศึกษาการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เปรียบเทียบกับการย่อยสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* หลายชนิดพบว่าเอนไซม์จากเชื้อดังกล่าวนี้ให้การย่อยสลายโปรตีนได้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนในปริมาณมาก อยู่ในช่วง 0.025-0.032 เปอร์เซนต์ และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดแล้วพบว่าผลผลิตที่ได้จากการย่อยโดยเชื้อ *Aspergillus* ทั้งสองชนิดให้ปริมาณผลผลิตเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์สายสั้นๆในปริมาณที่มากกว่า

เอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์หลายๆชนิดที่นำมาเปรียบเทียบกันเช่น เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Bacillus* sp. และ*Streptomyces* sp. เป็นต้น และความเข้มข้นของสับสเตรทที่ให้ทำการย่อยก็มีผลต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์ พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสับสเตรทมีความเข้มข้นสูงเกินกว่าความสามารถในการย่อยสลายของเอนไซม์จะทำให้ได้ผลผลิตคงที่ ซึ่งในทางอุตสาหกรรมในการใช้ความเข้มข้นสับสเตรทที่เหมาะสมต่อความเข้มข้นเอนไซม์มีความสำคัญมากเพราะ ถ้าความเข้มข้นของสับสเตรทสูงเกินไปจะเป็นการเปลืองต้นทุนการผลิต จึงมีควบคุมความเข้มข้นของสับสเตรทให้คงที่เพื่อให้อัตราการย่อยสลายเป็นไปได้อย่างต่อเนื่องโดยการประยุกต์ใช้เอนไซม์ตรึงในระดับอุตสาหกรรมซึ่งจะทำให้คุมสภาวะต่างๆได้ดียิ่งขึ้น(ศิวาพร อรรฐาเมศร์, 2525)

การศึกษาความเป็นกรดเบสในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (ผลการทดลองที่ 3.4.3) เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* ทั้ง 2 ชนิด มีแนวโน้มในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวไปในทางเดียวกัน โดยจะให้ปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนสูงในพีเอชเป็นกลางและด่างเล็กน้อย ซึ่งเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และsp2 จะมีคุณสมบัติเป็น neutral protease และ alkaline protease (Nakadai, T., et al.,1972) โดยจากการศึกษาพบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* จะผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้ทั้ง Acid protease Neutral protease และ Alkaline protease ขึ้นกับสภาวะที่เลี้ยงเชื้อและที่ใช้สกัดเอนไซม์เพื่อใช้ โดยพบว่าเชื้อที่เลี้ยงในอาหารแข็งจะให้ผลผลิตเป็น Neutral protease และ alkaline protease เป็นส่วนใหญ่ในขณะที่เชื้อที่เลี้ยงในอาหารเหลวเชื้อผลิต Acid protease เป็นส่วนมาก ซึ่งเอนไซม์คุณสมบัติต่างกันไปและมีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนแตกต่างกันออกไป (Nakadai T. and Nasuno S.,1976) เอนไซม์ปาเปน และโบรมิเลน โดยเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลนจะสามารถย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้ดีขึ้นเล็กน้อยที่พีเอชเป็นกลาง ซึ่งเอนไซม์ ปาเปน จะมีคุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีนเป็น endopeptidase ที่มีคุณสมบัติเป็น neutral protease จึงทำงานได้ดีในช่วงพีเอชเป็นกลางโดยช่วงพีเอชที่ดีที่สุดของเอนไซม์ปาเปนคือ พีเอส 7-8 (ทวีศักดิ์ วุฒิเวียงธรรม,2536) เอนไซม์โบรมิเลนมีคุณสมบัติทางได้ดีในช่วงพีเอชค่อนข้างไปทางกรดคือมีแอคติวิตีดีที่สุดที่พีเอช 5.0(กัลยา วงศ์สินอุดม, 2526) แต่จากผลการทดลองก็ให้ปริมาณผลผลิตที่มากกว่าเดิมเพียงเล็กน้อย โดยที่พีเอชเป็นกรดปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะมีแนวโน้มต่ำไปในทิศทางเดียวกัน และที่พีเอชเป็นด่างปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะมีแนวโน้มที่สูงขึ้นเช่นเดียวกัน ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดซึ่งอาจมีผลมาจากคุณสมบัติของโปรตีนถั่วเขียวเข้ามาเกี่ยวข้อง Hirano H. และคณะ(1992) พบว่าโปรตีนในถั่วเขียวจะสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่เป็นด่างและที่อุณหภูมิสูง ซึ่งจะทำให้ค่าปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงที่พีเอชเป็นด่างโดยจะมีค่าสูงกว่าปกติได้ จากการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนจะให้ผลผลิตสายเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระในปริมาณน้อยกว่าการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 โดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ผลการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวสูงที่สุดที่พีเอช

8.0 แต่เมื่อพีเอชสูงขึ้นการย่อยโปรตีนถั่วเขียวทำได้น้อยลง เป็นเพราะสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยโปรตีนจากแป้งถั่วเขียว

การศึกษาอุณหภูมิในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (ผลการทดลองที่ 3.4.4) เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น จะทำให้ความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวลดลง โดยในเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ความสามารถจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส และในเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน ความสามารถในการย่อยจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียสเพราะที่อุณหภูมิสูงทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติทำให้การย่อยสับสเตรททำได้น้อยลง ในขณะที่ปาเปนและโบรมิเลนสับสเตรทไม่เหมาะสมต่อการย่อยทำให้การย่อยทำได้น้อย ซึ่งตามธรรมชาติแล้วคุณสมบัติของเอนไซม์ปาเปน จะมีแอคติวิตีของเอนไซม์สูงแม้อุณหภูมิในการย่อยสลายโปรตีนจะสูงแสดงมีความเสถียรที่อุณหภูมิสูงแต่แอคติวิตีจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส(ทวีศักดิ์ วุฒิเวียงธรรม,2536) ในขณะเดียวกันเอนไซม์โบรมิเลนก็มีแอคติวิตีสูงที่อุณหภูมิสูงเช่นเดียวกับปาเปน โดยแอคติวิตีจะต่ำลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส(ศิวพร อรรฐาเมศร์,2525) แต่จากการย่อยแป้งถั่วเขียวที่อุณหภูมิต่างๆพบว่าเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน จะย่อยแป้งถั่วเขียวได้น้อยมากเมื่อเทียบกับการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ อาจเนื่องด้วยสับสเตรทคือโปรตีนถั่วเขียวมีความไม่เหมาะสมต่อการย่อยโดยเอนไซม์และสภาพธรรมชาติในการย่อยของเอนไซม์ซึ่งเป็น endopeptidase ด้วย (ทวีศักดิ์ วุฒิเวียงธรรม, 2536 ; ศิวาพร อรรฐาเมศร์, 2525) ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้สูงที่สุด แสดงว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความสามารถในการย่อยจะลดลงอย่างมากอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งโดยปกติแล้วเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* จะมีแอคติวิตีของเอนไซม์ที่ดีอยู่ในช่วงอุณหภูมิไม่สูงมากนักคือช่วง 30-42 องศาเซลเซียส เพราะเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนจะเสียสภาพธรรมชาติทำให้โครงสร้างของเอนไซม์เสียสภาพไปได้(Tsujita Y. and Endo A.,1976)

การศึกษาเวลาในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ (ผลการทดลองที่ 3.4.5) พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะใช้เวลาน้อยที่สุดในการย่อยแป้งถั่วเขียวคือ 24 ชั่วโมง ในขณะที่เอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน จะใช้เวลา 18 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อทั้งสองชนิดให้ผลการย่อยโปรตีนถั่วเขียวที่สูงกว่าเอนไซม์จากปาเปนและโบรมิเลนอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งเวลาในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวมีความสำคัญเพราะ ผลของเวลาแสดงถึงความเร็วในการย่อย ความเสถียรของเอนไซม์เมื่อเวลาผ่านไป และถ้าใช้เวลาในการย่อยน้อยและเอนไซม์ที่ย่อยให้ผลผลิตดีจะทำให้ในขบวนการผลิตลดต้นทุนในการผลิตได้มากซึ่งเวลา มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมต่างๆ (ดวงพร คันธโชติ,2530) จากผลการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์พบว่าการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์

ไนโตรเจนสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบกับผลของปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดพบว่า ผลผลิตที่ได้ในเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และสายเปปไทด์สั้นๆมากที่สุด

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะให้ผลการย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้ดีกว่าเอนไซม์โปรติเอสจากพืชคือปาเปนและโบรมิเลน โดยจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดอะมิโนอิสระ และเปปไทด์สายสั้น ๆ มากที่สุด โดยสรุปสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 คือที่พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 5 เปอร์เซนต์ และความเข้มข้นเอนไซม์ 150 ยูนิต

4.4 การเปรียบเทียบการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์และกรดเกลือเข้มข้น

จากการเปรียบเทียบการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์และกรด ซึ่งทำการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยกรดเกลือเข้มข้นที่ความเข้มข้นของสับสเตรทเท่ากันกับการย่อยด้วยเอนไซม์ โดยให้การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้น คิดเป็นการย่อยสมบูรณ์ 100 เปอร์เซนต์และเปรียบเทียบกับการย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ โดยการใช้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนเป็นตัวเปรียบเทียบ ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบดูความสามารถในการย่อยของเอนไซม์เทียบกับการย่อยสลายด้วยด้วยกรดเกลือเข้มข้น จะมีความสามารถในการย่อยเป็นกี่เปอร์เซนต์ของกรด ซึ่งจะมีความแตกต่างกับการเปรียบเทียบปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยเป็นการเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยโปรตีนให้ได้สายเปปไทด์สั้นๆในปริมาณมากเปรียบเทียบระหว่างเอนไซม์แต่ละชนิด

ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์ในการย่อยแป้งถั่วเขียว(ผลการทดลองที่3.5.1) พบว่าเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ค่าการย่อยสูงที่สุดถึงเกือบ 70 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 150 ยูนิต เมื่อเทียบกับการย่อยด้วยกรดที่ความเข้มข้นแป้งถั่วเขียวเดียวกัน แต่ในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน จะมีการย่อยต่ำคือประมาณ 30 และ 20 เปอร์เซนต์ที่ความเข้มข้นเอนไซม์ 50 และ 25 ยูนิตตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการย่อยสับสเตรทแป้งถั่วเขียวที่น้อยกว่าการย่อยโดยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 มาก ซึ่งการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะทำการย่อยได้ใกล้เคียงกับเอนไซม์ ปาเปนและโบรมิเลน แต่ย่อยแป้งถั่วเขียวได้ในปริมาณน้อยกว่ากรดเกลือเข้มข้นมาก และเมื่อเปรียบเทียบกับการนำปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนมาเปรียบเทียบกับปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยดูผลผลิตที่ได้จากการย่อยพบว่า การย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ผลผลิตเป็นสายเปปไทด์สั้นๆและกรดอะมิโนอิสระที่มากกว่าเอนไซม์ชนิดอื่น ในการศึกษาความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวต่อการย่อยโดยเอนไซม์ (ผลการทดลองที่ 3.5.2) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นจะทำให้ความสามารถในการย่อยน้อยลง โดยในความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวต่ำ ๆ ปริมาณโปรตีนในแป้งถั่วเขียวไม่สูง ความ

สามารถในการย่อยจะทำได้เกือบ 100 เปอร์เซนต์ซึ่งพบในเอนไซม์โบรมิเลน และเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus sp1* แต่เมื่อแป้งถั่วเขียวมีความเข้มข้นสูงขึ้น ความสามารถในการย่อยจะลดต่ำลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้นเอนไซม์โบรมิเลนและเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus sp1* จะมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันโดยความสามารถในการย่อยลดต่ำลงคล้ายๆกัน แต่ในการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปน พบว่าเมื่อความเข้มข้นแป้งถั่วเขียว 2 เปอร์เซนต์จะทำให้ความสามารถในการย่อยลดต่ำลงมากและลดต่ำตลอดเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้น พบว่าโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus sp2* จะมีความสามารถในการย่อยลดลงน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์แต่ละชนิด และความสามารถในการย่อยจะลดลงเมื่อแป้งถั่วเขียวมีความเข้มข้นสูงที่ 5 และ 6 เปอร์เซนต์ แต่ก็ยังคงมีความสามารถในการย่อยสูงที่สุดเมื่อเทียบกับเอนไซม์ทั้งสี่ชนิดที่ทำการศึกษา เป็นที่สับสเตรทมีความเหมาะสมกับเอนไซม์น้อย ทำให้ยากแก่การย่อยสลายโดยเอนไซม์ ซึ่งจะทำให้การย่อยทำได้น้อยลงเมื่อความเข้มข้นของแป้งถั่วเขียวสูงขึ้น แต่ความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยโปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus sp.* มีความสามารถในการย่อยโปรตีนสูง เพราะมีจุดตัดมาก จากการศึกษาจุดตัดของเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp เปรียบเทียบกับจัดตัดของเอนไซม์โปรเนส (Nakadai, T. and Nasuno, S.,1976) ความสามารถในการย่อยของเอนไซม์จะสูงขึ้นในพีเอชที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ (ผลการทดลองที่ 3.5.3) ที่สภาวะความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสแต่ละชนิด จะให้ค่าความสามารถในการย่อยที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อยสูงสุดคือเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 ที่พีเอช 8.0 โดยเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด จะมีความสามารถในการย่อยต่ำที่ พีเอชเป็นกรด แต่เมื่อพีเอชสูงขึ้นเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการย่อยที่สูงขึ้นตามมาด้วย แต่จากผลการทดลองเป็นที่น่าสังเกตว่าเอนไซม์ปาเปนและเอนไซม์โบรมิเลนซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเดียวกัน มีความสามารถในการย่อยที่ต่ำคล้ายกัน โดยพบว่าแม้ความเป็นกรดด่างของสภาวะที่ใช้ในการย่อยสลายจะเปลี่ยนแปลงไปความสามารถในการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวก็ทำได้เล็กน้อย เป็นเพราะว่าสับสเตรทแป้งถั่วเขียวมีความไม่เหมาะสมต่อการย่อยสลายโดยเอนไซม์ทั้งสองชนิดน้ำคือปาเปนและโบรมิเลน ความสามารถในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 จะมีแนวโน้มที่คล้ายกับการย่อยด้วยเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp2 แต่มีความสามารถในการย่อยสลายที่น้อยกว่าเล็กน้อย เป็นเพราะความจำเพาะในการย่อยสลายของเอนไซม์ที่ต่างกันไปแต่ละชนิด จุดตัดที่ต่างกันด้วย อุณหภูมิมีผลต่อความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวของเอนไซม์มาก โดยในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 ความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 และ 42 องศาเซลเซียสตามลำดับเป็นเพราะความเสถียรของเอนไซม์ที่ต่างกัน ทำให้ความสามารถในการย่อยที่อุณหภูมิต่างกัน เพราะเอนไซม์เป็นโปรตีนเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติได้ แต่ในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลน พบว่าเมื่อ

อุณหภูมิสูงกว่า 37 องศาเซลเซียส จะทำให้ความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวต่ำลงตามลำดับ เป็นเพราะสับสเตรทแป้งถั่วเขียวที่ไม่เหมาะสมต่อการย่อยของเอนไซม์ซึ่งในสภาพธรรมชาติของเอนไซม์ทั้งสองจะเสถียรที่อุณหภูมิสูงและมีแอคติวิตีดีแม้อุณหภูมิจะสูงก็ตาม และพบว่าเอนไซม์จากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูงที่สุดที่ 42 องศาเซลเซียสและสูงที่สุดในเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด เวลาที่สั้นที่สุดที่เอนไซม์มีความสามารถในการย่อยสูงสุด ในการย่อยแป้งถั่วเขียว (ผลการทดลองที่ 3.5.5) โดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 คือ 24 ชั่วโมง ในเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลนคือ 18 และ 12 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลนจะให้ความสามารถในการย่อยต่ำกว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อมากเกือบครึ่งหนึ่งแม้จะใช้เวลาสั้นกว่าก็ตามความสามารถในการย่อยของเอนไซม์ปาเปนและโบรมิเลนจะทำการย่อยแป้งถั่วเขียวได้ต่ำมาก แม้เวลาจะนานขึ้นก็ตาม

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวระหว่างเอนไซม์และกรดนั้นจะสามารถนำไปใช้ในการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในการใช้ย่อยแป้งถั่วเขียว โดยจากการศึกษานั้นเอนไซม์จากจุลินทรีย์คือเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 และ sp2 จะมีความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวได้ดีกว่าเอนไซม์ ปาเปน และโบรมิเลนมาก และเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวได้ดีที่สุด โดยจะมีความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวได้มากถึง 60-65 เปอร์เซนต์ และสามารถย่อยแป้งถั่วเขียวให้ผลผลิตกรดอะมิโน และสายเปปไทด์สั้นๆได้ดีที่สุด จากการเปรียบเทียบปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนและปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดเพื่อดูลักษณะของผลผลิตที่ได้

4.5 การย่อยสลายแป้งถั่วเขียวในสภาวะที่เหมาะสมในขนาด 3 ลิตร

จากการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวในสภาวะที่เหมาะสมโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 (ผลการทดลองที่ 3.6) ในปริมาตร 3 ลิตร โดยใช้แป้งถั่วเขียวเข้มข้น 5 เปอร์เซนต์ น้ำหนักต่อปริมาตรในบัฟเฟอร์ทริสไฮโดรคลอริก 0.05 โมลาร์ที่มีแคลเซียมคลอไรด์ 5 มิลลิโมลาร์ อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมงใช้เอนไซม์ 150 ยูนิตต่อแป้งถั่วเขียว 50 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณฟอร์มาดีไฮด์ไนโตรเจนที่ได้มีปริมาณน้อยกว่าในการย่อยสลายในปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ 2.776×10^{-3} เปอร์เซนต์ เนื่องมาจากในการย่อยในปริมาตร 3 ลิตร ภาชนะที่ใช้ไม่มีใบกวนที่จะทำให้สารละลายภายในภาชนะเกิดการผสมเข้ากันได้น้อย อีกทั้งพบว่าแป้งถั่วเขียวบางส่วนที่ไม่ละลายจะตกตะกอนรวมกันเป็นก้อนอยู่ก้นภาชนะ ซึ่งจะทำให้เอนไซม์ทำงานไม่เต็มที่ในการเข้าไปย่อยสลายโปรตีน ควรมีการปรับปรุงอาจใช้ภาชนะที่มีใบกวนและควบคุมอุณหภูมิได้ หรือใช้เทคนิคการตรึงเอนไซม์เข้าช่วยและให้สับสเตรทไหลผ่านเอนไซม์ที่ถูกตรึงไว้ซึ่งจะทำให้สามารถควบคุมอัตราการย่อย

สภาวะ ความเข้มข้นของสับสเตรท อีกทั้งยังประหยัดเอนไซม์อีกด้วย(ศิวาพร อรรฐาเมศร์, 2525) ปัญหาที่พบอีกประการหนึ่งคือแป้งถั่วเขียวที่ใช้ควรบดให้ละเอียดที่สุดเพื่อให้แป้งถั่วเขียวละลายในบัฟเฟอร์ได้มากที่สุด และทำให้การเข้าทำปฏิกิริยาได้มากที่สุด เพราะลักษณะของการย่อยในปริมาตรใหญ่ขึ้นทำได้น้อยกว่าการย่อยในเล็กเป็นเพราะแป้งถั่วเขียวกระจายตัวได้น้อย โดยมีขนาดใหญ่และตกตะกอนลงสู่ข้างล่าง ถ้ามีการแก้ปัญหานี้ได้ จะทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกิริยาทำการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวได้ในปริมาณมาก และจากการศึกษานี้พบว่าเอนไซม์มีความสามารถในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวได้ดี โดยในการศึกษานี้ได้ทำการย่อยโปรตีนถั่วเขียวในแป้งถั่วเขียวโดยตรง ถ้ามีการศึกษาในการย่อยโปรตีนไอโซเลทจากถั่วเขียว (ทนงค์ ภัครัชพันธุ์, 2529) จะทำให้การย่อยสลายทำได้ดีขึ้นกว่าการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวโดยตรงซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า และจะทำให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระ และสายเปปไทด์สั้นๆในปริมาณมาก ซึ่งจะมีคุณค่าทางอาหารสูงด้วย

4.6 การทำเข้มข้นผลผลิตที่ได้จากการขยายขนาด

จากการทำเข้มข้นผลผลิตที่ได้จากการขยายปริมาตร 3 ลิตร (ผลการทดลองที่ 3.7) โดยการระเหยสารละลายออกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของผลผลิต โดยในการทำเข้มข้นนั้นจะทำให้ปริมาณของฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนที่ได้มีปริมาณสูงขึ้นตามลำดับ ในการทำเข้มข้นผลิตภัณฑ์นั้นต้องคำนึงถึงกลิ่นและรสชาติที่ได้เป็นสำคัญ และพบว่าเมื่อทำเข้มข้นโดยการระเหยสารละลายออกมากกว่า 60 เปอร์เซนต์ จะได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนใกล้เคียงกับการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรด ซึ่งในการทำเข้มข้นนี้อาจเป็นอีกวิธีในการพัฒนาและเพิ่มคุณภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนในปริมาณที่เหมาะสมได้ แต่ถ้าในการย่อยโปรตีนถั่วเขียวในขนาด 3 ลิตร ด้วยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 มีความสามารถในการย่อยเต็มที่คือ ย่อยได้ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนได้เท่าในระดับ 50 มิลลิลิตร ปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนจะสูงใกล้เคียงกับการทำเข้มข้นผลิตภัณฑ์ประมาณ 30 เปอร์เซนต์ และเมื่อทำเข้มข้นผลิตภัณฑ์ขึ้นอีกเล็กน้อยก็จะมีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนใกล้เคียงกับการย่อยแป้งถั่วเขียวด้วยกรดเกลือเข้มข้น

ในการย่อยแป้งถั่วเขียวโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโนอิสระและสายเปปไทด์สั้น ๆ ในปริมาณที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp1 เอนไซม์ ปาเปน และเอนไซม์โบรมิเลน โดยดูได้จากปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่ได้จากการย่อยแป้งถั่วเขียว และในการย่อยโดยเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจน ไม่เท่ากับการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรด แต่สามารถแก้ปัญหาได้โดยการทำเข้มข้นผลิตภัณฑ์โดยการระเหย และในการเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยกรดและเอนไซม์ พบว่าเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อ *Aspergillus* sp2 จะมีความสามารถในการย่อยสูงที่สุด โดยมีความสามารถในการย่อยแป้งถั่วเขียวถึง

60-65 เปอร์เซนต์ แต่เมื่อทำเข้มข้นผลิตภัณฑ์ด้วยการระเหย พบว่าปริมาณของฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนสามารถทำให้เพิ่มสูงขึ้นได้จริง แต่ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดจะสูงขึ้นตามไปด้วย และเมื่อนำปริมาณฟอร์มาดิไฮด์ไนโตรเจนต่อปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมาพิจารณา พบว่า เมื่อทำเข้มข้นสูงขึ้นถึงระดับ 40 เปอร์เซนต์จะทำให้ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีอัตราส่วนของโปรตีน สูงขึ้นโดยปริมาณผลผลิตที่เป็น กรดอะมิโนอิสระ และสายเปปไทด์สั้นๆ ต่อปริมาณโปรตีนที่มีขนาดใหญ่จะลดน้อยลง และกลิ่นและสีของผลผลิตที่ได้จะไม่เป็นที่น่าพอใจและมีกลิ่นแรง ซึ่งอาจเป็นเพราะการเข้าตัดของเอนไซม์ซึ่งทำการตัดในจุดตัดที่ไม่เหมาะสม ทำให้ได้กลิ่นที่เหม็นรุนแรง ถึงแม้จะมีคุณค่าสูงก็ตาม จึงควรมีการศึกษาเลือกใช้เอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อยโปรตีนได้สูง และมีจุดตัดที่ทำให้กลิ่นของผลิตภัณฑ์ดีเหมาะสมแก่การบริโภคได้ต่อไป

อย่างไรก็ตามในการย่อยสลายแป้งถั่วเขียวด้วยเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในการทดลองนี้ยังไม่ได้คุณภาพ และกลิ่นรสดีสมบูรณ์ ควรจะต้องมีการศึกษาเพิ่มเติม โดยอาจมีการใช้เอนไซม์ที่ให้กลิ่นรส ซึ่งหากนำมาใช้ร่วมกันหลายชนิดก็ได้