

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
ABSTRACT	จ
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ข
สารบัญตาราง	ฎ
สารบัญภาพ	ท
สัญลักษณ์และอักษรย่อ	ด
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 วัตถุประสงค์	2
1.2 สมมติฐานของปัญหาวิจัย	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	2
1.4 คำสำคัญ	2
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	3
2.1 เครื่องดื่ม (beverage)	3
2.2 โปรตีเอส (protease)	4
2.2.1 โปรตีเอสจาก <i>Bacillus subtilis</i>	4
2.2.2 โบรมิเลน (bromelain)	6
2.3 ถั่วเหลือง (soybean)	8
2.3.1 ถั่วเหลืองพันธุ์ราชมงคล 1	8
2.3.2 โปรตีนถั่วเหลือง	10
2.3.3 โปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	11
บทที่ 3 ประสิทธิภาพของโบรมิเลนจากผลสับปะรดในการย่อยถั่วเหลือง	13
บทนำ	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
อุปกรณ์และวิธีการ	15
3.1 การเตรียมโบรมิเลนหยาบ (preparation of crude bromelain)	15
3.2 ศึกษาประสิทธิภาพของโบรมิเลนจากผลสับปะรดในการย่อยโปรตีนจากถั่วเหลือง	16
3.3 การจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองหลังจากการย่อย	16
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	17
ผลการทดลอง	19
3.1 คุณสมบัติและคุณภาพของโบรมิเลนจากผลสับปะรด	19
3.2 ผลการศึกษาสภาวะการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วเหลืองด้วยโบรมิเลนหยาบ	20
3.3 ผลการจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองหลังจากการย่อยด้วยโบรมิเลนหยาบ	22
วิจารณ์	26
สรุป	28
บทที่ 4 ประสิทธิภาพของโปรตีนจาก <i>Bacillus subtilis</i> MR10 ในการย่อยถั่วเหลือง	29
บทนำ	29
อุปกรณ์และวิธีการ	31
4.1 การเตรียมโปรตีนจาก <i>Bacillus subtilis</i> MR10	31
4.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของโปรตีนจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ในการย่อยโปรตีนถั่วเหลือง	32
4.3 การจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองหลังจากการย่อย	32
4.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	32
ผลการทดลอง	35
4.1 คุณลักษณะของโปรตีนจาก <i>B. subtilis</i> MR10	35
4.2 สภาวะที่เหมาะสมของโปรตีนจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ในการย่อยโปรตีนถั่วเหลือง	37
4.3 ผลการจำแนกโปรตีนถั่วเหลืองหลังจากการย่อย	40

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
วิจารณ์	43
สรุป	45
บทที่ 5 เครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	46
บทนำ	46
อุปกรณ์และวิธีการ	48
5.1 การผลิตเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	48
5.2 การศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	48
5.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	48
ผลการทดลอง	50
5.1 การผลิตเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	50
5.2 การยอมรับของผู้บริโภคต่อเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	53
5.3 อายุการเก็บรักษาของเครื่องดื่ม น้ำอัดลมผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเสท	64
วิจารณ์	68
สรุป	70
บทที่ 6 สรุปและข้อเสนอแนะ	71
บทที่ 7 เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก	81
ภาคผนวก ก การเผยแพร่ผลงาน	82
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ	92

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	93
ภาคผนวก ง ตัวอย่างการวิเคราะห์ทางด้านสถิติ	104
ภาคผนวก จ แบบสอบถาม	105
ภาคผนวก ฉ ภาพผลิตภัณฑ์และการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค	112
ประวัติผู้เขียน	117

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 การคาดการณ์ปริมาณการจำหน่ายน้ำผลไม้ปี 2554-2557	3
2 องค์ประกอบของถั่วเหลืองพันธุ์ต่าง	9
3 โกลบูลินที่เป็นองค์ประกอบของโปรตีนในถั่วเหลือง	10
4 กรดอะมิโนในถั่วเหลือง 100 กรัม	11
5 องค์ประกอบของโปรตีนมาตรฐาน (low molecular weight ของ GE Healthcare)	17
6 คุณสมบัติของโบรมิเลนหยาบจากผลสับประรด	19
7 ผลของอัตราส่วนของถั่วเหลืองกับโบรมิเลนหยาบและระยะเวลาในการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองต่อปริมาณ FAN และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมดในไฮโดรไลเซต	21
8 คุณสมบัติของโปรตีนเอสหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10	38
9 ผลของอัตราส่วนของถั่วเหลืองกับโปรตีนเอสหยาบและระยะเวลาในการย่อยโปรตีนถั่วเหลืองต่อปริมาณ FAN และปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ทั้งหมดในไฮโดรไลเซต	39
10 คุณภาพทางกายภาพและคุณภาพทางเคมีของเครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตที่เตรียมจากการย่อยด้วยโบรมิเลนหยาบ	50
11 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของเครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตจากการย่อยด้วยโบรมิเลนหยาบ	51
12 คุณภาพทางกายภาพและทางเคมีของเครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตด้วยโปรตีนเอสจาก <i>B. subtilis</i> MR10	52
13 คุณภาพทางประสาทสัมผัสของเครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตด้วยโปรตีนเอสจาก <i>B. subtilis</i> MR10	53
14 คุณภาพของผลิตภัณฑ์เครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตที่ไในการทดสอบผู้บริโภค	54
15 ข้อมูลพื้นฐานของผู้บริโภคที่ทดสอบผลิตภัณฑ์เครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซต	55
16 คะแนนความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์เครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซต	62
17 คุณภาพของเครื่องตีมน้ำ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเซตด้วยโบรมิเลนหยาบจากผลสับประรดที่เก็บรักษานาน 30 วัน	65

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
18	คุณภาพของเครื่องต้มเนื้อ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลสด้วยโปรตีนเอสหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่เก็บรักษานาน 30 วัน	66
19	คุณภาพทางประสาทสัมผัสของเครื่องต้มเนื้อ สับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลสในอายุการเก็บรักษานาน 30 วัน	67
<b>ตารางผนวกที่</b>		
1	ค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{280}$ ) ของไทโรซีน	94
2	ค่าการดูดกลืนแสง ( $A_{595}$ ) ของ BSA	98
3	การเตรียม citrate buffer ที่พีเอช 4 5 และ 6	99
4	การเตรียม phosphate buffer ที่พีเอช 7 และ 8	100
5	การเตรียมเจล SDS-PAGE	102
6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) ทางเคมีคำนวณปริมาณ FAN ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโบรมิเลน	104

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
1	ลักษณะของ <i>B. subtilis</i>	5
2	ลักษณะของถั่วเหลืองพันธุ์ราชมงคล1	9
3	การเรียงลำดับกรดอะมิโนของเปปไทด์ lunasin	12
4	ขั้นตอนการเตรียมโบรมิเลนหยาบ(crude bromelain) จากผลสับประรด	15
5	ขั้นตอนการเตรียมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลสด้วยโบรมิเลนจากผลสับประรด	18
6	ลักษณะสับประรดพันธุ์ปัตตาเวียที่ใช้ในการศึกษา	19
7	ลักษณะถั่วเหลืองพันธุ์ราชมงคล1 ที่ใช้ในการศึกษา	20
8	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโบรมิเลนหยาบอัตราส่วนต่างๆ ระยะเวลา 2 ชั่วโมง	23
9	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโบรมิเลนหยาบที่อัตราส่วนต่างๆ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	24
10	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโบรมิเลนหยาบอัตราส่วน 1:3 ที่ระยะเวลาต่างๆ	25
11	การเตรียมโปรตีนหยาบจากถั่วเหลืองหมักเพื่อใช้ในการย่อยโปรตีนถั่วเหลือง	33
12	ขั้นตอนการเตรียมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลสด้วยโปรตีนหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10	34
13	ลักษณะการเจริญของเชื้อ <i>B. subtilis</i> MR10 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA	35
14	ลักษณะการเจริญของ <i>Bacillus subtilis</i> MR10 ในอาหารเหลว NB	36
15	ค่ากิจกรรมโปรตีนเอสจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่สภาวะการทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิต่างๆ	36
16	ค่ากิจกรรมโปรตีนเอสจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่สภาวะการทำปฏิกิริยาที่พีเอชต่างๆ	37
17	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโปรตีนเอสหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่อัตราส่วน 1:2 ที่ระยะเวลาต่างๆ	40
18	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโปรตีนเอสหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่อัตราส่วนต่างๆ ระยะเวลา 2 ชั่วโมง	41
19	แผ่นเจล SDS-PAGE ของไฮโดรไลสที่ได้จากการย่อยถั่วเหลืองด้วยโปรตีนเอสหยาบจาก <i>B. subtilis</i> MR10 ที่อัตราส่วนต่างๆ ระยะเวลา 12 ชั่วโมง	42

## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
20	ขั้นตอนการผลิตเครื่องตีมน้ำ าสับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเส	49
21	พฤติกรรมการรับประทานผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองของผู้บริโภค	56
22	ชนิดของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ผู้บริโภครับประทาน	57
23	ความถี่ในการรับประทานผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองของผู้บริโภค	57
24	สถานที่ที่ผู้บริโภคเลือกซื้อ ผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง	58
25	พฤติกรรมการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพของผู้บริโภค	59
26	วัตถุประสงค์ในการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ผู้บริโภคนิยมรับประทาน	59
27	ความถี่ในการดื่มเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพของผู้บริโภค	60
28	ประเภทของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่บริโภคนิยมดื่ม	60
29	แนวโน้มความต้องการในการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ	61
30	การยอมรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำ าสับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเส	63
31	ความต้องการซื้อ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำ าสับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเส ในราคา 30 บาทต่อขวด (200 มิลลิลิตร)	63
32	การพิจารณาเลือกซื้อ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำ าสับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลือง ไฮโดรไลเสท	64
<b>ภาพผนวกที่</b>		
1	ตัวอย่างของกราฟมาตรฐานไทโรซีนสำหรับการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมโปรตีนเอส	95
2	ตัวอย่างของกราฟมาตรฐานBSA สำหรับการวิเคราะห์โปรตีนตามวิธีแบรดฟอร์ด	98
3	ลักษณะแผ่นเจลSDS	103
4	เครื่องดื่มน้ำ าสับประรดผสมโปรตีนถั่วเหลืองไฮโดรไลเส	112
5	ลักษณะการเลี้ยงเชื้อ <i>B. subtilis</i> MR10 บนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ	112
6	ลักษณะการเลี้ยงเชื้อ <i>B. subtilis</i> MR10 ในถั่วเหลือง	113
7	การย่อยโปรตีนในถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ50 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิ	113
8	การทดสอบทางประสาทสัมผัสในห้องปฏิบัติการ	114



## สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพผนวกที่	หน้า
9 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ณ บริเวณโรงเรียนกวดวิชาดิวดรอป จังหวัดลำปาง	114
10 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ณ บริเวณหน้าร้านมินิมาร์ท ตรงข้ามมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง	115
11 ร้านขายน้ำเต้าหู้ บริเวณหน้าสถานีรถไฟ จังหวัดลำปาง	115
12 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ณ บริเวณหน้าห้างหุ้นส่วนจำกัด ลำปางเสรีสรรพสินค้า จังหวัดลำปาง	116

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร