

การเสริมกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายในเทมเป้

Enrichment of Essential Amino Acids in Tempeh

พิชญ์ธร วนาอินทรายุธ¹ และวราวุฒิ ครุสง²

Pitch-on Wana-intarayude and Warawut Krusong

ABSTRACT

Tempeh, an oriental fermented soybean, causes to increase the proteinaceous value in soybean. Soybean, however, contains a low methionine content. Mixed tempeh with corn was applied to increase this amino acid in the bean. Dried corns were processed by the following steps : boiled for 10 min, let stand for 3hr, then steamed for 10 min. It was found that the best ratio for mixed tempeh with corns was four portions of processed soybean and one portion of processed corn. The Tempeh mold, *Rhizopus oligosporus*, could proliferate in mixed tempeh as good as that in the original tempeh. Essential amino acids in the mixed tempeh were investigated and it was found that most of them, particularly methionine and lysine, were higher than that in the original tempeh.

Keyword: *Mixed-tempeh, Amino acid, Corn.*

บทคัดย่อ

เทมเป้เป็นอาหารหมักที่นิยมทำมาจากถั่วเหลือง แต่ในถั่วเหลืองมีเมไธโอนีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญ ต่อร่างกายชนิดหนึ่งในปริมาณค่อนข้างต่ำ ดังนั้นจึง ได้นำข้าวโพดมาผสมกับถั่วเหลืองในลักษณะของ เทมเป้ผสม โดยนำข้าวโพดอบแห้งมาต้มจนเดือด เป็นเวลา 10 นาที แช่ทิ้งไว้นาน 3 ชั่วโมง นึ่งอีก 10 นาที แล้วจึงผสมกับถั่วเหลือง ในอัตราส่วนถั่ว

เหลืองต่อข้าวโพด 4 : 1 ซึ่งจะทำให้เชื้อรา *Rhizopus oligosporus* เจริญเติบโตได้ดีในระดับเดียวกันกับ หมักถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียว จากการศึกษานี้พบว่ามีปริมาณกรดอะมิโน พบว่าในเทมเป้ผสมมีปริมาณกรดอะมิโน ที่สำคัญต่อร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมไธโอนีนและ ไลซีนสูงกว่าเทมเป้ที่หมักจากถั่วเหลืองอย่างเดียว

¹ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย

Dept. of Food Industrial Technology, Faculty of Science, The University of the Thai Chamber of Commerce

²ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Dept. of Agro-Industry, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

คำนำ

เทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมมากของอินโดนีเซีย เตรียมได้โดยทำการหมักวัตถุดิบพวกเมล็ดพันธุ์พืชด้วยเชื้อราสกุล *Rhizopus* โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ *Rhizopus oligosporus* จนกระทั่งเส้นใยสีขาวของเชื้อราปกคลุมวัตถุดิบเป็นก้อนอย่างหนาแน่น วัตถุดิบที่ใช้ในการทำเทมเป้มีหลายชนิด แต่วัตถุดิบที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ถั่วเหลือง ตามปกติแล้วเมื่อกั่วถึงเทมเป้มักจะต้งนึกถึงการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* เสมอ (Ko and Hesseltine, 1979)

ตามปกติถั่วเหลืองจะมีโปรตีนและสารอาหารค่อนข้างสูง แต่มีเพียงบางส่วนของโปรตีนและสารอาหารบางชนิดเท่านั้นที่ร่างกายสามารถใช้ได้ถ้าบริโภคถั่วเหลืองที่ผ่านการอบ ต้ม หรือย่าง (Hesseltine and Wang, 1972) แต่ในระหว่างช่วงการหมัก

เทมเป้ด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* ในระยะสั้นๆ จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นในถั่วเหลือง ทั้งในแง่ของ กลิ่น รส และลักษณะเนื้อที่ดีขึ้น และยังทำให้ย่อยง่ายขึ้น มีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคอย่างยิ่ง (วรารุณ, 2530) แต่เนื่องจากถั่วเหลืองซึ่งใช้ในการผลิตเทมเป้จะมีปริมาณของกรดอะมิโนจำพวก เมไทโอนีน (methionine) ต่ำ ประกอบกับเมไทโอนีนจัดเป็นกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายชนิดหนึ่ง และร่างกายไม่สามารถผลิตได้เอง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการนำข้าวโพดซึ่งเป็นธัญพืชที่มีปริมาณเมไทโอนีนสูงมาผสมกับถั่วเหลืองในอัตราส่วนที่เหมาะสม เพื่อผลิตเทมเป้ผสมที่เรียกว่า mixed tempeh ให้มีคุณค่าของกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายอย่างครบถ้วน

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมวัตถุดิบ

ถั่วเหลือง นำถั่วเหลืองมาล้างน้ำ แล้วแช่ในน้ำที่ผสมกรดแลคติก (ความเข้มข้น 80%) ในอัตราส่วน 1% ที่อุณหภูมิ 70°ซ นาน 2 ชั่วโมง แล้วนำมาแยกเปลือกออกตั้งทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80°ซ จนกระทั่งผิวของเมล็ดถั่วเหลืองแห้ง (Krusong และคณะ, 1991)

ข้าวโพด นำเมล็ดข้าวโพดแห้งมาต้มจนเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่ทิ้งไว้นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ แล้วนึ่งต่ออีก 10 นาที จึงชับน้ำจนผิวของข้าวโพดแห้ง (ดัดแปลงมาจาก สุพจน์ และคณะ, 2525)

การเตรียมเทมเป้ผสม

อัตราส่วนที่เหมาะสมของถั่วเหลืองและข้าวโพด ผสมถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ผ่านขั้นตอนการเตรียมแล้ว โดยใช้ข้าวโพด 10 20 30 40 และ 50% ตามลำดับ นำส่วนผสมดังกล่าวใส่ลงในจานอาหารเกลี้ยงเชื้อ จากนั้นเติมหัวเชื้อผง *R. oligosporus* ซึ่งเตรียมขึ้นโดยวิธีของ Krusong และคณะ (1991) 0.05% ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันให้ดีและบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปหั่นเป็นชิ้นแล้วนึ่งนาน 30 นาที อบให้แห้งที่ 80°ซ นาน 24 ชั่วโมง แล้วบดเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การเปลี่ยนแปลงของเทมเป้ผสมในระหว่างการหมัก

ผสมถั่วเหลืองและข้าวโพดตามอัตราส่วนที่เหมาะสมกับหัวเชื้อ *R. oligosporus* แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°C นาน 72 ชั่วโมง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หลังจากบดให้เป็นผงแล้ว

การวิเคราะห์

พีเอช โดยใช้เครื่อง digital pH meter

Total acidity อาศัยวิธีมาตรฐานของ AOAC (1984)

Soluble carbohydrate อาศัยวิธีดัดแปลงของ anthron reagent method (Hart and Fishier, 1971) โดยแช่ตัวอย่าง 1 กรัม ในน้ำร้อน 100 มล.

เติม 0.2% anthron reagent 1 มล. ผสมให้เข้ากันอย่างดี ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที แล้วจึงนำไปอ่านค่า optical density ที่ 620 นาโนเมตร โดยใช้ spectrophotometer

Chemical composition การวิเคราะห์ความชื้น เถ้า สารเยื่อใย และโปรตีน ใช้วิธีมาตรฐานของ AOAC (1984) ส่วนไขมันใช้วิธีของ Meloen และ Pomeranz (1973) โดยห่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัมในกระดาษ Whatman No.1 จากนั้นนำไปสกัดด้วย petroleum ether เป็นเวลา 16 ชั่วโมง แล้วอบที่ 105°C 2 ชั่วโมง จึงนำไปชั่งหาน้ำหนักที่เปลี่ยนไป

Amino acid composition วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Amino Acid Analyzer Hitachi 835-50

ผลและการวิจารณ์

จากการศึกษาถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมของถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ใช้ในการเตรียมเทมเป้ผสมพบว่าปริมาณข้าวโพดที่เหมาะสมเท่ากับ 20% ดังที่แสดงในตารางที่ 1 ทั้งนี้เนื่องจากเทมเป้ผสมที่ใช้ปริมาณ 20% จะให้ปริมาณเมไธโอนีนมากกว่าเทมเป้ผสมข้าวโพด 10% แต่ถ้าใช้ปริมาณข้าวโพดมากขึ้นจะทำให้ปริมาณโปรตีนของเทมเป้ผสมลดลงตามไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณโปรตีนในข้าวโพดต่ำกว่าในถั่วเหลืองนั่นเอง (ดังแสดงในบททดสอบต่อไป) นอกจากนี้แล้วเมื่อพิจารณาถึงการเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. oligosporus* เป็นสำคัญจะพบว่าในเทมเป้ผสมทั้งที่ใช้ปริมาณข้าวโพด 10 และ 20% ให้ผลของการเจริญเติบโตของเชื้อรา *R. oligosporus* ได้ในระดับเดียวกันกับพวกที่เตรียมจากถั่วเหลืองอย่างเดียว

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนในเทมเป้ผสมที่ใช้ข้าวโพดในปริมาณต่างๆภายหลังการหมัก 24 ชั่วโมง

ปริมาณข้าวโพดที่ใช้ %	ปริมาณโปรตีน* (กรัม/100กรัม, dry basis)
10	31.2 ก
20	30.8 ก
30	28.2 ข
40	24.1 ค
50	22.4 ง

* ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ตัวอักษรที่เหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพิจารณาตาม 5% DMRT

ตารางที่ 2 แสดงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักของเทมเป้ผสม ซึ่งใช้ข้าวโพดในระดับ 20% ปริมาณ soluble carbohydrate เพิ่มขึ้นมากในช่วงการหมัก 24 ชั่วโมงแรก แต่มีแนวโน้มลดลงหลังจากหมักนาน 48 ชั่วโมง ในขณะที่ total acidity กลับเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างหมักมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเทมเป้ผสม ปริมาณของ soluble carbohydrate (ได้แก่ กลูโคสและน้ำตาลชนิดต่าง ๆ) เพิ่มขึ้นในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ผลเนื่องมาจากเอนไซม์ของเชื้อราย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต และใช้เป็นแหล่งคาร์บอน (carbon source) สำหรับสร้างพลังงานเพื่อการเจริญเติบโตของเชื้อราในภายหลัง (Steinkraus และคณะ 1969) จึงทำให้ปริมาณของ soluble carbohydrate กลับลดลงหลังจากหมักนาน 48 ชั่วโมง

ส่วนผลของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยคาร์โบไฮเดรตทำให้ปริมาณของ total acidity สูงขึ้น สำหรับในกรณีของ amino nitrogen ที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากเกิด deamination ของโปรตีน แล้วปล่อยแอมโมเนียออกมา จึงพบว่าพีเอชของเทมเป้สูงขึ้นกว่าเมื่อเริ่มหมัก

ในกรณีของส่วนผสมในเทมเป้กับปริมาณโปรตีนที่ได้ พบว่าส่วนผสมของถั่วเหลืองกับข้าวโพดในอัตราส่วน 4 : 1 นั้นปริมาณโปรตีนในเทมเป้ผสมน้อยกว่าโปรตีนในเทมเป้ที่เตรียมจากถั่วเหลืองอย่างเดียว ทั้งนี้เพราะปริมาณของโปรตีนในข้าวโพดมีเพียง 4.6% ซึ่งต่ำกว่าถั่วเหลืองมาก (37.5%) ดังแสดงในตารางที่ 3 แต่เทมเป้ผสมมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าในเทมเป้ปกติด้วยเหตุที่ข้าวโพดมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าถั่วเหลืองประมาณ 1 เท่า

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักเทมเป้ผสม (ค่าเฉลี่ย)

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	pH	Total* acidity (กรัม/100 กรัม)	Soluble carbohydrate (มก./100 กรัม)	Amino nitrogen (มก./100 กรัม)
0	5.9 ก	0.18 ก	48.7 ก	ND
24	6.3 ข	0.63 ข	190.6 ข	430.0 ก
48	6.5 ค	1.26 ค	115.4 ค	780.0 ข
72	6.4 ค	1.16 ค	90.3 ง	675.5 ค

* คำนวณในรูปของกรดแลคติก

ตัวอักษรที่แสดงในคอลัมน์ : ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพิจารณาตาม 5% DMRT

ND ตรวจไม่พบ

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมี ของเทมเป้และเทมเป้ผสมเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองและข้าวโพดซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบ

องค์ประกอบทางเคมี (%)	ถั่วเหลือง	ข้าวโพด	เทมเป้*	เทมเป้ผสม*
ความชื้น	8.35	7.10	70.6	70.1
โปรตีน	37.5	4.6	39.1	30.8
ไขมัน	20.1	7.3	16.3	16.1
คาร์โบไฮเดรต	36.1	85.8	38.1	43.8
เถ้า	6.3	2.3	6.5	9.3
สารเยื่อใย	6.9	2.8	7.8	7.2

*บ่มอุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตารางที่ 4 ปริมาณกรดอะมิโนที่สำคัญต่อร่างกายในเทมเป้และเทมเป้ผสม

กรดอะมิโนที่สำคัญ ต่อร่างกาย	เทมเป้ (มก./กรัม โปรตีน)	เทมเป้ผสม (มก./กรัม โปรตีน)
Isoleucine	86.7	89.5
Leucine	136.4	147.5
Lysine	95.2	112.0
Methionine	35.8	37.2
Phenylalanine	100.3	101.0
Threonine	76.7	75.5
Tryptophane	20.2	23.8
Valine	77.6	86.0
Total protein (%)	39.0	30.0

ผลของการหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* ทำให้เทมเป้ผสมมีปริมาณกรดมิโนที่สำคัญต่อร่างกายในปริมาณที่สูงกว่าในเทมเป้ที่หมักจากถั่วเหลืองอย่างเดียว ดังแสดงในตารางที่ 4 จะเห็นได้

ว่าปริมาณของเมไธโอนีนและไลซีนที่พบในเทมเป้ผสมจะสูงกว่าที่พบในเทมเป้ปกติ ทั้งนี้เนื่องจากผลของข้าวโพดที่เติมลงไปในการทำเทมเป้เป็นสาเหตุสำคัญ

สรุปผลการทดลอง

ข้อดีของการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* จนได้ผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่าเทมเป้ คือ ทำให้โปรตีนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองมีคุณค่าสูงขึ้นซึ่งร่างกายสามารถดูดซึมไปใช้ได้ดีขึ้นอีกด้วย อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเติมข้าวโพดลงไปในการทำเทมเป้ผสม ถึงแม้ปริมาณโปรตีนจะลดลงไปตามปริมาณของข้าว

โพดที่เพิ่มขึ้นก็ตาม แต่ผลดีที่ได้รับคือปริมาณของกรดมิโนที่สำคัญต่อร่างกายโดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมไธโอนีนและไลซีนจะถูกเสริมให้สูงขึ้นซึ่งจะส่งผลดีต่อผู้บริโภคโดยตรง ซึ่งอาจจะมีการเติมงา หรือ วัตถุดิบอื่นที่มี protein มากกว่า ซึ่งอาจมีการทดลองต่อไป

บรรณานุกรม

- วรวิฑูรี ครุสง. 2530. เรามารู้จักเทมเป้กันดีกว่า. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 4 : 68-73.
- สุพจน์เพื่องพูนวงศ์, พรปรีดาวันากิจิตและพรุ่งแจ้ง. 2525. การดัดแปรในเมล็ดข้าวโพด. วารสารอาหาร 8 : 22-41.
- AOAC., 1984. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 14th ed., Association of Official Chemist, Inc., Virginia, p.1141.
- Hart., F.L. and Fisher, T., 1971. Modern Food Analysis. Springer-Verlag, New York, p.129-135.
- Hesseltine, C.W. and Wang, H.L., 1972. Fermented Soybean Products, p.389-419. In Smith, A.K. and Circle, S.J. (eds.), Soybeans : Chemistry and Technology, AVI Publishing Com., Inc. Westport, Connecticut.

- Ko, S.D. and Hesseltine C.W., 1979. Tempe and Related Foods, p.115-14. In Rose, A.H. (ed.), Economic Microbiology, Vol.4, Microbial Biomass, Academic Press, London.
- Krusong, W., Yongsmith, B. and Sanchez, P.C., 1991. Effects of Pretreatment on Soybeans in Production of High Vitamin B12-Tempeh by *Propionibacterium shermanii*. Philip. Agri. J. (In Press).
- Meloan, C.E. and Pomeranz, Y., 1973. Food Analysis Laboratory Experiments. The AVI Com., Inc. Westport, Connecticut., p.43-47.
- Steinkaus, K.H., Yap, B.H., Van Buren, J.P., Provvidenti, M.I. and Hand, D.B., 1960. Studies on Tempe-An Indonesian Fermented Soybean Food, Food Res., 25 : 777-788.