

คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในกากข้าวเหลืองที่หมักด้วยเชื้อ

**RHIZOPUS OLIGOSPORUS และ BACILLUS SUBTILIS**

นางสาว อรพรรณ กิริตสุทธิสาธ



สถาบันวิทยบริการ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาอาหารเคมี

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2539

ISBN 974-636-519-3

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**NUTRITIVE VALUE OF PROTEIN IN SOYBEAN RESIDUE  
FERMENTED WITH  
RHIZOPUS OLIGOSPORUS AND BACILLUS SUBTILIS**

**Miss Orawan Keeratisuthisathorn**

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science in Pharmacy**

**Department of Food Chemistry**

**Graduate School**

**Chulalongkorn University**

**Academic Year 1996**

**ISBN 974-636-519-3**

Thesis Title Nutritive Value of Protein in Soybean Residue Fermented  
with *Rhizopus oligosporus* and *Bacillus subtilis*  
By Miss Orawan Keeratisuthisathorn  
Department Food Chemistry  
Thesis Advisor Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.  
Thesis Co-Advisor Associate Professor Somboon Tanasupawat, Ph.D.



Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial  
Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree.

Handwritten signature of Professor Supawat Chutivongse.

..... Dean of Graduate School  
(Professor Supawat Chutivongse, M.D.)

Thesis Committee

Handwritten signature of Suthee Sunthornthum.

..... Chairman  
(Suthee Sunthornthum, M.Sc.)

Handwritten signature of Oranong Kangsadalampai.

..... Thesis Advisor  
(Associate Professor Oranong Kangsadalampai, Ph.D.)

Handwritten signature of Somboon Tanasupawat.

..... Thesis Co-Advisor  
(Associate Professor Somboon Tanasupawat, Ph.D.)

Handwritten signature of Thitirat Panmaung.

..... Member  
(Assistant Professor Thitirat Panmaung, M.Sc.)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว



อรวรรณ กิรติศุทธิสาร : คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนในกากถั่วเหลืองที่หมักด้วย  
เชื้อ RHIZOPUS OLIGOSPORUS และ BACILLUS SUBTILIS (NUTRITIVE VALUE  
OF PROTEIN IN SOYBEAN RESIDUE FERMENTED WITH RHIZOPUS  
OLIGOSPORUS AND BACILLUS SUBTILIS) อ.ที่ปรึกษา : รศ. ดร. อรอนงค์  
กิ่งศาลาอำไพ อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร. สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์ , 91 หน้า.  
ISBN 974-636-519-3.

กากถั่วเหลืองที่ผลิตจากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง จะมีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างต่ำ  
การทดลองนี้จึงนำกากถั่วเหลืองและถั่วเหลืองมาหมักด้วยเชื้อ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 และ  
*Bacillus subtilis* TISTR 1 เพื่อผลิตเป็นเทมเป้และถั่วเน่าตามลำดับ แล้วนำมาประเมินคุณค่าทางโภชนาการ  
ของโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ได้ โดยเปรียบเทียบกับเทมเป้และถั่วเน่าที่ได้จากถั่วเหลือง

พบว่าปริมาณโปรตีนในเทมเป้กากถั่วเหลือง, ถั่วเน่ากากถั่วเหลือง, เทมเป้ถั่วเหลือง, และ ถั่วเน่า  
ถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.40, 1.65, 2.55, และ 1.85 ตามลำดับ ในเทมเป้กากถั่วเหลืองปริมาณกรด  
อะมิโนเวติน, โทโรซีน, และ เฟนิลอะลานีน เพิ่มขึ้นร้อยละ 9-16 ส่วนในเทมเป้ถั่วเหลืองปริมาณกรด  
อะมิโนอะลานีน และ เฟนิลอะลานีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 31 และ 15 ตามลำดับ ในถั่วเน่ากากถั่วเหลือง  
ปริมาณซีสทีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 11.2 แต่ปริมาณเวตินลดลงร้อยละ 13 ปริมาณเวตินและไลซีนในถั่วเน่าถั่ว  
เหลืองเพิ่มขึ้นร้อยละ 26 และ 11 ตามลำดับ แต่ปริมาณอาร์จินีนลดลงร้อยละ 15 ค่าอะมิโนเอสติดคอร  
ของกรดอะมิโนจำเป็นบางชนิดในกากถั่วเหลืองและถั่วเหลืองหมักมีค่าสูงขึ้น เทมเป้กากถั่วเหลืองมีค่า  
ความสามารถย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 67.68 เป็นร้อยละ 74.95 ในขณะที่ความสามารถย่อย  
ได้ของโปรตีนในถั่วเน่ากากถั่วเหลืองค่อนข้างคงที่ ความสามารถย่อยได้ของโปรตีนในเทมเป้ถั่วเหลืองและ  
ถั่วเน่าถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 59.65 เป็นร้อยละ 68.18 และ 66.92 ตามลำดับ นอกจากนี้กระบวนการ  
การหมักยังมีผลต่อปริมาณวิตามินอีกด้วย ผลการศึกษานี้แสดงว่ากากถั่วเหลืองหมักมีคุณค่าทาง  
โภชนาการของโปรตีนเพิ่มขึ้น

ภาควิชา ..... อาหารเคมี .....  
สาขาวิชา ..... อาหารเคมี .....  
ปีการศึกษา ..... 2539 .....

ลายมือชื่อนิสิต ..... *อรรวรรณ กิรติศุทธิสาร* .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ..... *อรอนงค์ กิ่งศาลาอำไพ* .....  
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ..... *สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์* .....

\*\* C775307 : MAJOR: FOOD CHEMISTRY

KEY WORD: PROTEIN / SOYBEAN RESIDUE / TEMPEH / TOOA-NAO

ORAWAN KEERATISUTHISATHORN : NUTRITIVE VALUE OF PROTEIN  
IN SOYBEAN RESIDUE FERMENTED WITH RHIZOPUS OLIGOSPORUS  
AND BACILLUS SUBTILIS. THESIS ADVISOR : ASSO. PROF.  
ORANONG KANGSADALAMPAI, Ph. D. THESIS CO-ADVISOR : ASSO.  
PROF. SOMBOON TANASUPAWAT, Ph. D. 91 pp. ISBN 974-636-519-3.

The nutritional value of soybean residue from soymilk processing was found to decrease. This experiment fermented the soybean residues and soybeans with *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 and *Bacillus subtilis* TISTR 1 to produce tempeh and tooa-nao, respectively. Then the nutritive value of protein in the raw and fermented products were analysed.

It was found that the crude protein contents in soybean residue tempeh, soybean residue tooa-nao, soybean tempeh, and soybean tooa-nao were increase 2.40%, 1.65%, 2.55%, and 1.85%, respectively. Valine, tyrosine, and phenylalanine contents were found to increase 9% to 16% after soybean residue tempeh fermentation. The contents of alanine and phenylalanine in soybean tempeh increased 31% and 15%, respectively. In soybean residue tooa-nao, cystine content increased 11.2% but valine content decreased 13%. In soybean tooa-nao, the contents of valine and lysine increased 26% and 11%, respectively but arginine content decreased 15%. Amino acid scores of some essential amino acids in fermented products were increase. The protein digestibility of soybean residue tempeh was increase from 67.68% to 74.95% whereas that of soybean residue tooa-nao remained constant. We also found that protein digestibility of soybean tempeh and soybean tooa-nao increased from 59.65% to 68.18% and 66.92%, respectively. In addition, vitamins contents were also affected by the fermentation process. These results suggest that the nutritive value of protein in soybean residue was improved by the fermentation process.

สถาบันวิทยบริการ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา.....อาหารเคมี.....

สาขาวิชา.....อาหารเคมี.....

ปีการศึกษา.....2539.....

ลายมือชื่อนิสิต.....Orawan Keeratisuthisathorn.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....Oranong Kongsadalampai.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....Somboon Tanasupawat.....



## ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest gratitude and infinite thanks to my advisor, Associate Professor Oranong Kangsadalampai, for her kindness, invaluable advice, continual guidance, keen interest, and completing my work during the entire course of this study. I am very grateful to extend special thanks and appreciation to my co-advisor, Associate Professor Somboon Tanasupawat, for his kindness, helpful advice, endless support, and knowledges on technique in microbiology.

My appreciation is also extended to Lecturer Suthee Sunthornthum and Assistant Professor Thitirat Panmaung for their collaborations, kind assistance, and useful comments. Special thanks are also given to Associate Professor Vimolmas Lipun, Head of Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University for allowing me to use facilities which enable me to carry out this research project. A special appreciation is also given to Assistant Professor Nongluksna Sriubolmas for her invaluable assistance and helpful advice on technique in microbiology. The special acknowledgement is given to all staff members in the Department of Food Chemistry and Department of Microbiology for their kind assistance and sharing their friendship throughout this graduate study. Sincere thanks are due to Lactasoy Limited Company for supplying soybean residue to use in this study. I am greatly indebted to the Graduate School, Chulalongkorn University for granting partial financial support to fulfill this study.

I wish to express my appreciation and special thanks to my lovely friends for their love, care, understanding, cheerfulness, and great encouragements. I will miss their friendliness forever. Greatest thanks, appreciation, and love go to my family for their kindness, endless love, enthusiastic support, understanding, and continual encouragements.



## CONTENTS

	<b>Page</b>
Abstract (Thai).....	iv
Abstract (English).....	v
Acknowledgement.....	vi
Contents.....	vii
List of Figures.....	viii
List of Tables.....	ix
List of Abbreviations.....	x
Chapter I Introduction.....	1
Chapter II Review of Literatures.....	4
Tempeh.....	4
Tooa-nao.....	11
Protein quality.....	13
Chapter III Materials and Methods.....	16
Chapter IV. Results.....	28
Chapter V Discussion and Conclusion.....	38
References.....	46
Appendices	
Appendix I.....	55
Appendix II.....	74
Appendix III.....	80
Vita.....	91.

สถาบันวิทยบริการ  
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## LIST OF FIGURES

Figure		Page
1	Production of soybean residue tempeh	17
2	Production of soybean tempeh	19
3	Production of soybean residue tooa-nao	21
4	Production of soybean tooa-nao	23
5	The counting chamber of haemocytometer showing square chosen (A,B,C,D,E)	76
6	Method of spore counting	77



สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



## LIST OF TABLES

Table	Page
1 Proximate composition (% weight/dry weight basis) of unfermented and fermented soybean residue and soybean	29
2 Moisture content (% weight/fresh weight) of unfermented and fermented soybean residue and soybean	32
3 Amino acids composition (mg/g protein) of unfermented and fermented soybean residue and soybean	33
4 Amino acid scores of unfermented and fermented soybean residue and soybean	35
5 Protein digestibility of unfermented and fermented soybean residue and soybean	36
6 Vitamins of unfermented and fermented soybean residue (weight/ 100 g dry weight)	37
A.1 Standard protein of FAO/WHO 1973 (Joint FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee 1973)	73
A.2 Analysis of variance table of moisture content (dry weight basis)	83
A.3 Analysis of variance table of crude protein content	84
A.4 Analysis of variance table of crude fat content	85
A.5 Analysis of variance table of ash content	86
A.6 Analysis of variance table of crude fiber content	87
A.7 Analysis of variance table of moisture content (fresh weight basis)	88
A.8 Analysis of variance table of protein digestibility	89

## LIST OF ABBREVIATIONS

%	percentage
°C	degree celsius
μl	microlitre
A.	<i>Aspergillus</i>
ATCC	American Type Culture Collection
conc.	concentration
g	gram
h	hour
in	inch
l	litre
lb	pound
M	molar
mcg	microgram
mg	milligram
min	minute
ml	millilitre
mM	millimolar
mm	millimetre
N	normality
ng	nanogram
nm	nanometre
no.	number
NRRL	Northern Regional Research Laboratory
pg	picogram
r	correlation coefficient
R.	<i>Rhizopus</i>
rpm	rounds per minute
spp.	species
TISTR	Thailand Institute of Scientific and Technological Research