

การศึกษาคุณสมบัติของน้ำโปรตีนถั่วเขียว Study on Properties of Mung Bean Protein Waste

นิพัทธพร สถาพร* และปริญญ ชะอุ่มผล

Nipatcharaporn Sapapporn* and Pratya Chaumphol

โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร 62000

Biology Program, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University, Kamphaeng Phet, Thailand 62000

*Corresponding author: nipatchkk@kpru.ac.th

Received: September 01, 2022

Revised: November 02, 2023

Accepted: January 17, 2024

Abstract

The study on property of production waste from a vermicelli factory, which is the part obtained after the extraction process of mung bean starch. The waste was brought to dry by the freeze-drying. Then the powder was analyzed for protein, nutrients and amino acid content. The results were found to be rich in nutrients, especially 62.05 g/100g of protein, and essential amino acids such as Lysine, Phenylalanine, and Leucine. However, it was found to be contaminated with a lot of microorganisms. The powder sample was irradiated to reduce the amount of microbial contamination. After irradiation, the number of microorganisms was reduced to a level that was safe for consumers using the microbial standard of the Ministry of Public Health. Consequently, the microbial contamination isolates were investigated by nucleotide sequence analysis. It was found that there were no pathogens.

Keywords: mung bean protein, freeze dry, food irradiation

บทคัดย่อ

การศึกษาคุณสมบัติของน้ำโปรตีนถั่วเขียวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตวุ้นเส้น เป็นส่วนที่ได้หลังจากขั้นตอนการสกัดแป้งถั่วเขียว ของเหลือทิ้งนี้ถูกนำมาทำให้เป็นผงแห้งโดยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) จากนั้นตัวอย่างผงแห้งถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารและกรดอะมิโน พบว่าอุดมไปด้วยสารอาหารมากมาย ส่วนใหญ่เป็นโปรตีนเท่ากับ 62.05 g/100g มีกรดอะมิโนจำเป็นปริมาณมาก เช่น ไลซีน ฟีนิลอะลานีน

และลิวซีน อย่างไรก็ตามโปรตีนถั่วเขียวพบปนเปื้อนจุลินทรีย์ในปริมาณมาก จึงนำผงโปรตีนไปฉายรังสี เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน และทำการวิเคราะห์ค่าปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนอีกครั้ง หลังการฉายรังสีพบปริมาณจุลินทรีย์ลดลงอยู่ในระดับที่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทำการระบุเชื้อจุลินทรีย์ที่พบด้วยวิธีทางชีวโมเลกุล พบว่าไม่มีเชื้อก่อโรค

คำสำคัญ: โปรตีนถั่วเขียว การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การฉายรังสี

คำนำ

ถั่วเขียว (*Vigna radiata*(L.) Wilczek) เป็นหนึ่งในพืชที่สำคัญมากที่สุด นิยมปลูกกันในช่วงฤดูการสั้น ๆ เป็นพืชตระกูลถั่วสามารถเติบโตได้ดีในฤดูร้อน ปลูกกันอย่างแพร่หลายในภูมิภาคเขตร้อน เมล็ดถั่วเขียวอุดมไปด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน แร่ธาตุ และใยอาหาร (Dahiya *et al.*, 2015; Mubarak, 2005) ซึ่งมีส่วนร่วมในการปรับสมดุลอาหารในชีวิตประจำวัน นอกจากนี้ถั่วเขียวยังมีกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ลดความดันโลหิต และลดความอ้วน (Tang *et al.*, 2014)

โรงงานวันเส้นคลองขลุง จังหวัดกำแพงเพชร ผลิตวันเส้นด้วยกรรมวิธีธรรมชาติด้วยการแช่ถั่วเขียวในที่มืด 1 คืน จากนั้นนำเข้าเครื่องโม่ ซึ่งน้ำโปรตีนเป็นส่วนที่แยกชั้นจากแป้งถั่วเขียว ทางโรงงานได้นำส่วนที่เป็นน้ำโปรตีนเก็บไว้ในบ่อพัก และส่งผ่านท่อให้ความร้อนทำให้โปรตีนตกตะกอน กรอง อัดเม็ด และตากแห้ง ทางโรงงานเรียกว่า โปรตีนอาหารสัตว์ ซึ่งค่อนข้างมีราคาสูง ทำให้โรงงานมีความต้องการที่เพิ่มมูลค่าจากของเหลือทิ้งดังกล่าว Hung *et al.* (2020) ศึกษาเมล็ดถั่วเขียวที่ออกภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสง พบปริมาณสารประกอบฟีนอลและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ สารต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์สูงที่สุด 96 ชั่วโมง ของการงอกภายใต้สภาวะที่มืด การงอกของเมล็ดถั่วเขียวมีปริมาณโปรตีน 31.9 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นอย่างน้อย 40.92 เปอร์เซ็นต์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ 96 ชั่วโมง อยู่ที่ 7.19 มิลลิกรัม กรดเพอรูลิก/กรัมของเปลือกเมล็ด ซึ่งให้ค่าแอนติออกซิเดนต์ 86.4 เปอร์เซ็นต์ สารยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 72.7 เปอร์เซ็นต์ และสารยับยั้งเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส 72.9 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเขียวมีประโยชน์ทางโภชนาการมากมาย อย่างไรก็ตามถั่วเขียวมีจุลินทรีย์ปนเปื้อนอยู่มากเช่นกัน Park *et al.* (2020) พบปริมาณแบคทีเรียและยีสต์ราที่ปนเปื้อนอยู่ในถั่วเขียวเท่ากับ 4.67×10^7 CFU/g

และ 5.01×10^7 CFU/g ตามลำดับ Nagar *et al.* (2016) ใช้โซเดียมไฮโปคลอไรท์ ความเข้มข้น 200 ppm ร่วมกับการฉายรังสีแกมมา ความเข้มข้น 12 kGy ในการทำให้ถั่วงอกปลอดเชื้อ เพื่อใช้เป็นอาหารของผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง พบปริมาณเชื้อลดลงน้อยกว่า 10 CFU/g ในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 12 วัน จากงานวิจัยดังกล่าวจึงมีแนวคิดที่จะเพิ่มมูลค่าน้ำโปรตีนถั่วเขียวให้มากขึ้นด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) เพื่อคงคุณภาพโปรตีนถั่วเขียว ซึ่งในงานวิจัยนี้เรียกว่า โปรตีนถั่วเขียว (Mung bean protein) ลดปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนโดยการฉายรังสี จากนั้นนำโปรตีนที่ผ่านการฉายรังสีมาวิเคราะห์ค่าการปนเปื้อนจุลินทรีย์อีกครั้ง ทำการระบุชื่อจุลินทรีย์นำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาประเมินความเสี่ยงต่อสุขภาพของผู้บริโภคในการนำใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีน

วิธีดำเนินการวิจัย

จุดเก็บตัวอย่างและการเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อพัก ณ ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงงานวันเส้นคลองขลุง จังหวัดกำแพงเพชร ซึ่งทางโรงงานเรียกว่า บ่อพักน้ำโปรตีน ลงในขวดปลอดเชื้อ นำตัวอย่างมาผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) เพื่อเปลี่ยนสถานะของตัวอย่างจากของเหลวเป็นของแข็ง โดยการแช่แข็งตัวอย่างที่อุณหภูมิ -80°C. เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นนำเข้าเครื่อง Freeze dryer ยี่ห้อ GOLD-SIM, USA ที่อุณหภูมิ -80°C. รอจนกว่าตัวอย่างแห้งจึงเก็บผงตัวอย่างในที่แห้ง

วิเคราะห์ข้อมูลโภชนาการ

นำผงโปรตีนถั่วเขียวที่ได้หลังจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมาวิเคราะห์ข้อมูลโภชนาการ ได้แก่ ปริมาณเถ้า ปริมาณโปรตีน ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ค่าพลังงาน ปริมาณไขมัน ค่าความชื้น ปริมาณคอลลาเจน ปริมาณกรดอะมิโน

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อนในโปรตีนถั่วเขียว

ชั่งโปรตีนถั่วเขียว 1 กรัม ลงในน้ำปลอดเชื้อ 9 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 10^{-2} บีบตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ด้วยวิธีการ Spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 37°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่บ่มครบตามกำหนดแล้วคำนวณด้วยวิธีการ Standard Plate Counts (SPC)

การฉายรังสีโปรตีนแห้ง

นำโปรตีนถั่วเขียวส่งฉายรังสี ณ ศูนย์ฉายรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) เพื่อลดปริมาณเชื้อ โดยใช้รังสีแกมมา ความเข้มข้น 5 กิโลเกรย์ จากเครื่องฉายรังสีที่มีโคบอลต์-60 (60Co) หรือ ซีเซียม-137 (^{137}Cs) เป็นต้นกำเนิดรังสี ระยะเวลาการฉายรังสี 4.88 ชั่วโมง

วิเคราะห์ปริมาณเชื้อปนเปื้อนในโปรตีนถั่วเขียวหลังการฉายรังสี

1. การวิเคราะห์ปริมาณและระบุเชื้อแบคทีเรีย

นำผงโปรตีนแห้งที่ผ่านการฉายรังสีวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ Spread plate ที่ค่าเจือจาง 10^{-1} ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ต่อน้ำ 9 มิลลิลิตร จากนั้นบีบตัวอย่าง ตัวอย่างละ 0.3, 0.3, 0.4 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) จำนวน 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 37°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่บ่มครบตามกำหนดแล้วคำนวณด้วยวิธีการ Standard Plate Counts (SPC) จากนั้นคัดแยกลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งรหัสคัดแยก จัดจำแนกแบคทีเรียที่คัดแยกได้ด้วยการย้อมสีแกรม

แบคทีเรีย ศึกษารูปร่างของแบคทีเรียและการติดสีแกรม ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า เพื่อระบุสายพันธุ์ พร้อมกับส่งระบุเชื้อสายพันธุ์โดยวิธีทางชีวโมเลกุล (16S rRNA) ที่บริษัท Macrogen สาธารณรัฐเกาหลี

2. การวิเคราะห์ปริมาณและระบุเชื้อเชื้อราและยีสต์

นำผงโปรตีนแห้งที่ผ่านการฉายรังสีคำนวณหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ Spread plate ที่ค่าเจือจาง 10^{-1} ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ต่อน้ำ 9 มิลลิลิตร จากนั้นบีบตัวอย่าง ตัวอย่างละ 0.3, 0.3, 0.4 มิลลิลิตร ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Dichloran Glycerol Agar (DG18) จำนวน 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 25°C. เป็นเวลา 5 วัน นำตัวอย่างที่บ่มครบตามกำหนดแล้วคำนวณด้วยวิธีการ Standard Plate Counts (SPC) จากนั้นคัดแยกลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน นำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ตั้งรหัสคัดแยก จัดจำแนกเชื้อราที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันด้วยการทำสไลด์คัลเจอร์ ตรวจสอบลักษณะของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อรากับกล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100X และ 400X เพื่อระบุสายพันธุ์ และส่งระบุเชื้อโดยวิธีทางชีวโมเลกุล (18S rRNA) ที่บริษัท Macrogen สาธารณรัฐเกาหลี

ผลการวิจัย

การทำแห้งตัวอย่างน้ำด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) เป็นส่วนที่แยกชั้นจากแป้งถั่วเขียวที่พอกไว้ 1 คืบ ทางโรงงาน ได้นำส่วนที่เป็นน้ำนี้ไหลไปเก็บไว้ในบ่อพัก ทำการเก็บตัวอย่างน้ำใสในขวดปลอดเชื้อ โดยตัวอย่างน้ำ 1 ลิตร จะได้ผงแห้ง 13.33 กรัม ผงแห้งมีลักษณะสีเขียวย่อนเป็นผงร่วน (Figure 1)



Figure 1 Appearance of mung bean protein after freeze drying

ผลการวิเคราะห์ สารอาหาร กรดอะมิโน และ คอลลาเจน ในผงโปรตีนถั่วเขียวหลังจากการทำแห้ง ด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) แสดงดัง Table 1 ข้อมูลโภชนาการของโปรตีนที่ผ่านการแช่ เยือกแข็ง ปริมาณเถ้าและปริมาณคาร์โบไฮเดรตในโปรตีน ถั่วเขียว เท่ากับ 8.42 และ 13.66 g/100g ตามลำดับ ให้ ค่าพลังงานและปริมาณไขมัน เท่ากับ 331.82 Kcal/100g และ 3.22 g/100g ตามลำดับ ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 62.05 g/100g แสดงให้เห็นว่าน้ำโปรตีน ซึ่งเป็นของ เหลือทิ้งจากโรงงานวันเส้นอุดมไปด้วยโปรตีน ซึ่งมีมูลค่า ทางเศรษฐกิจอย่างมาก

โปรตีนถั่วเขียวมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็น หลากหลายชนิด เช่น ไลซีน ฟีนิลอะลานีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน โดยพบไลซีนปริมาณมาก เท่ากับ 15,914 mg/100g ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ ฟีนิลอะลานีนและ ลิวซีน เท่ากับ 9,289 และ 7,564 mg/100g ตามลำดับ ซึ่งไลซีน ฮิสติดีน และเมไทโอนีน เป็นกรดอะมิโนที่พบ ได้น้อยในธัญพืชอื่น ๆ เช่น ข้าวสาลี และข้าวบาร์เลย์ แต่ในโปรตีนถั่วเขียวพบปริมาณของไลซีน ฮิสติดีน และ เมไทโอนีน เท่ากับ 15,914, 3,886 และ <20 mg/100g

ตามลำดับ แสดงว่าวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) ช่วยคงคุณค่าของกรดอะมิโนจำเป็น ไว้ได้ จากการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน พบคอลลาเจน ในปริมาณน้อย ดังนั้นการที่จะนำโปรตีนถั่วเขียวทำเป็น อาหารเสริมด้านความงามจึงมีความเป็นไปได้ค่อนข้าง น้อย ยกเว้นการนำผงโปรตีนไปใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีน ซึ่งมีความเป็นไปได้มากกว่า

ผลการวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อ (Table 2) พบ ปริมาณเชื้อปนเปื้อนในตัวอย่างโปรตีนถั่วเขียวเท่ากับ 3.27×10^4 CFU/g ซึ่งมีเชื้อปนเปื้อนในปริมาณมาก คาดการณ์ว่ามาจากเมล็ดถั่วเขียว สอดคล้องตามผลการ รายงานปริมาณแบคทีเรียและยีสต์ราในถั่วงอกเท่ากับ 4.67×10^7 CFU/g และ 5.01×10^7 CFU/g ตามลำดับ (Park et al., 2020) จึงได้นำโปรตีนถั่วเขียวไปฉายรังสี พบปริมาณเชื้อปนเปื้อนลดลงมากกว่า 1,800 เท่า แต่ อย่างไรก็ตามการฉายรังสีที่ความเข้มข้น 5 KGay เป็น ความเข้มข้นรังสีที่กฎหมายกำหนดให้ใช้กับอาหาร (ศูนย์ ฉายรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ) ซึ่งเป็น ความเข้มข้นรังสีที่ไม่สามารถทำให้โปรตีนถั่วเขียว ปราสจากเชื้อได้ทั้งหมด พบแบคทีเรียที่มีลักษณะ

แตกต่างกัน 7 รูปแบบ และเชื้อราที่มีลักษณะแตกต่างกัน 3 รูปแบบ

โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการฉายรังสีถูกนำมาวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน พบแบคทีเรีย 7 ลักษณะที่ต่างกัน ดังนี้ รหัสเชื้อ Yel-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมสีเหลือง ลักษณะเซลล์รูปท่อนติดสีแดงแกรมลบ ระบุชื่อ *Sphingomonas dokdonensis* รหัสเชื้อ Lingor-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมสีส้มอ่อน ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์รูปท่อนติดสีม่วงแกรมบวก ระบุชื่อ *Deinococcus ficus* รหัสเชื้อ Milk-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมเล็กสีขาวขุ่น ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์ก่อตัวเป็นฟอรัมคล้ายอนุตติสีม่วง

แกรมบวก ระบุชื่อ *Staphylococcus Warneri* รหัสเชื้อ Rwhit-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมไม่เรียบสีขาวขุ่น ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์รูปท่อนติดสีม่วงแกรมบวก ระบุชื่อ *Bacillus cereus*

รหัสเชื้อ Sour-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมสีส้มเข้ม ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์รูปท่อนติดสีม่วงแกรมบวก ระบุชื่อ *Gordonia terrae* รหัสเชื้อ Whitcer-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมเรียบสีขาวขุ่น ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์รูปท่อนติดสีม่วงแกรมบวก ระบุชื่อ *Bacillus xiamenensis* รหัสเชื้อ Wk-bac ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อกลมเรียบสีขาวขุ่น ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์รูปท่อนติดสีแดงแกรมลบ ระบุชื่อ *Acinetobacter variabilis*

Table 1 Proximate analysis and amino acid composition of freeze dry mung bean protein

Proximate analysis	Mung bean protein	Unit
Ash	8.42	g/100g
Carbohydrate	13.66	g/100g
Energy	331.82	Kcal/100g
Fat	3.22	g/100g
Moisture	12.65	g/100g
Protein	62.05	g/100g
Collagen	<20	mg/100g

Table 1 (Continued)

Proximate analysis	Mung bean protein	Unit
Amino Acid Profile		
Alanine	1,546	mg/100g
Aspartic acid	3,436	mg/100g
Cystine	1,009	mg/100g
Glutamic acid	7,511	mg/100g
Glycine	906	mg/100g
Histidine	3,886	mg/100g
Hydroxylysine	<20	mg/100g
Hydroxyproline	<20	mg/100g
Isoleucine	5,268	mg/100g
Leucine	7,564	mg/100g
Lysine	15,914	mg/100g
Methionine	<20	mg/100g
Phenylalanine	9,289	mg/100g
Proline	1,481	mg/100g
Serine	630	mg/100g
Threonine	408	mg/100g
Tryptophan	-	mg/100g
Tyrosine	4,126	mg/100g
Valine	3,190	mg/100g

Table 2 Total plate count in freeze dry mung bean protein

Mung bean protein	Total microorganisms	CFU/g	Isolated name	Identified name by sequencing
Before radiation	Total plate count	3.27×10^4	-	-
After radiation (5 KGay)	Total plate count	1.80×10^1	Yel-bac	<i>Sphingomonas dokdonensis</i>
			Lingor-bac	<i>Deinococcus ficus</i>
			Milk-bac	<i>Staphylococcus Warneri</i>
			Rwhit-bac	<i>Bacillus cereus</i>
			Sour-bac	<i>Gordonia terrae</i>
			Whitcer-bac	<i>Bacillus xiamenensis</i>
			Wk-bac	<i>Acinetobacter variabilis</i>
	Total Yeast & Mold count	1.00×10^1	A01	<i>Aspergillus fumigatus</i>
			B02	Unknow B02
			C03	<i>Cladosporium sp.</i>

โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านการฉายรังสีถูกนำมาวิเคราะห์เชื้อราที่ปนเปื้อน พบเชื้อรา 3 ลักษณะที่แตกต่างกัน ดังนี้ รหัสเชื้อ A01 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นใยเชื้อราสีเขียว สปอร์มีลักษณะสีเขียวอ่อนลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์มีก้านชูสปอร์ ถูกลมสปอร์ และสปอร์ ระบุชื่อ *Aspergillus fumigatus* รหัสเชื้อ B02 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นใยเชื้อราสีเหลือง สปอร์มีลักษณะสีขาวลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์มีก้านชูสปอร์ และสปอร์ และรหัสเชื้อ C03 ลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อเส้นใยเชื้อราสีเขียวก่อนสปอร์มีลักษณะสีขาว ลักษณะเซลล์ได้กล้องจุลทรรศน์มีก้านชูสปอร์และสปอร์ ระบุชื่อ *Cladosporium sp.*

วิจารณ์ผลการวิจัย

โปรตีนถั่วเขียวที่ผ่านกระบวนการแช่เยือกแข็งมีลักษณะสีเขียวอ่อนเป็นผงร่วน สอดคล้องกับคุณสมบัติของการทำแห้งด้วยกระบวนการ Freeze drying โครงสร้างจะมีรูพรุนเกิดจากการก่อตัวของผลึกน้ำแข็ง

ระหว่างขั้นตอนการแช่เยือกแข็ง ซึ่งมีประกายระยิบระยับ Brishti *et al.* (2020) กล่าวว่าโปรตีนถั่วเขียวนี้นำไปทำเป็นสารทดแทนเนื้อสัตว์ได้ โดยศึกษาการทำแห้ง 3 รูปแบบ พบค่าโปรตีนที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง ให้ค่าโปรตีนมากกว่าการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) และการทำแห้งแบบลมร้อน (Hot-air oven drying)

งานวิจัยของ Hung *et al.* (2020) รายงานว่าในถั่วเขียวมีปริมาณแอสปาทิก ไกลซีน และไลซีน เป็นกรดอะมิโนหลักสามตัว ซึ่งมีมากกว่า 10% แต่จากผลการทดลองพบว่าโปรตีนถั่วเขียวมีกรดอะมิโนหลากหลายชนิด โดยไลซีนมีปริมาณมากกว่าแอสปาทิกประมาณ 4.5 เท่า และมีปริมาณมากกว่าไกลซีนประมาณ 17 เท่า อาจเนื่องด้วยกรรมวิธีการสกัดแบ่งของโรงงานเป็นวิธีการสกัดแบ่งด้วยวิธีธรรมชาติ กรดอะมิโนที่จำเป็นจึงถูกรักษาไว้ได้ในปริมาณมาก

ปริมาณเชื้อปนเปื้อนในตัวอย่างโปรตีนถั่วเขียวพบปริมาณมาก เท่ากับ 3.27×10^4 CFU/g จากการรายงานของ Peles *et al.* (2012) เมล็ดถั่วเขียวมีปริมาณ

จุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 3-7 log CFU/g หรือ 10^3 - 10^7 CFU/g และค่าดังกล่าวสามารถเพิ่มสูงขึ้นได้ในช่วงการออกจนถึง 11 log CFU/g (Prokopowich and Blank, 1991) การปนเปื้อนของเชื้อเนื่องมาจากสภาวะเหมาะสมในการเจริญ เช่น ค่า pH อุณหภูมิ ค่าน้ำอิสระ (Bayer *et al.*, 2014) เมื่อนำโปรตีนถั่วเขียวไปฉายรังสีเพื่อลดปริมาณการปนเปื้อน พบว่าวิธีการฉายรังสีช่วยคงคุณค่าสารอาหารของโปรตีนถั่วเขียวไว้ได้ ในขณะที่ปริมาณเชื้อปนเปื้อนในโปรตีนถั่วเขียวลดลง การลดปริมาณเชื้อปนเปื้อนด้วยวิธีการฉายรังสีจึงเป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับให้ใช้กับอาหารสำหรับผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ซึ่งเป็นกลุ่มคนที่จำเป็นต้องได้รับอาหารที่มีความสะอาดปราศจากเชื้อมากกว่ากลุ่มคนทั่วไป (Lacumin *et al.*, 2017)

งานวิจัยครั้งนี้ใช้การฉายรังสี เพื่อลดปริมาณการปนเปื้อน ที่ความเข้มข้น 5 กิโลเกรย์ เป็นเวลา 4.88 ชั่วโมง เมื่อนำตรวจหาการปนเปื้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA พบค่าปริมาณการปนเปื้อนลดลงเหลือเท่ากับ 1.8×10^1 CFU/g แบคทีเรียที่พบในโปรตีนหลังผ่านการฉายรังสี ได้แก่ *Sphingomonas dokdonensis* แบคทีเรียสายพันธุ์แกรมลบ รูปแท่ง เชื้อ *Sphingomonas dokdonensis* ปนเปื้อนจากดิน ซึ่งไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563) *Deinococcus fuscus* ลักษณะโคโลนีสีส้มอ่อน รูปท่อนแกรมบวก *Deinococcus* อยู่รอดได้เมื่อ DNA ของพวกมันสัมผัสกับรังสีแกมมาและรังสียูวีในปริมาณสูง ซึ่ง *D. fuscus* ไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข *Staphylococcus warneri* ลักษณะโคโลนี กลมเล็ก สีขาวขุ่น ก่อตัวเป็นฟอรัมคล้ายยุงแกรมบวก *Staphylococcus* เป็นสกุลของแบคทีเรียแกรมบวก ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะมีลักษณะกลม (Cocci) และก่อตัวเป็นกลุ่มคล้ายยุง สกุล *Staphylococcus* มีอย่างน้อย 40 สปีชีส์ ส่วนใหญ่ไม่เป็นอันตรายและอาศัยอยู่ตามปกติบนผิวหนังของมนุษย์และสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ

Staphylococcus warneri เป็นสมาชิกของแบคทีเรียสกุล *Staphylococcus* ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเซลล์ทรงกลมปรากฏในกระจุก *S. warneri* ไม่ค่อยทำให้เกิดโรค แต่บางครั้งอาจทำให้เกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง ซึ่งไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข *Bacillus cereus* ลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น รูปท่อน แกรมบวก สร้างสปอร์ และสร้างสารพิษ ซึ่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเปื้อนอยู่ในอาหาร อาการอาเจียนมักเกิดจากการได้รับสารพิษชนิดที่มีความคงทน สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด-ด่างสูง โดยผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมง โดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่เกิน 24 ชั่วโมง พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จาก เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่าง ๆ เชื้อชนิดนี้อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งเครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ชนิดเข้มข้นหรือชนิดแห้ง สำหรับเครื่องดื่มธัญพืชและน้ำนมถั่วเหลือง สามารถพบ *B. cereus* แต่ต้องไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g) ถ้าสังเกตจากปริมาณเชื้อทั้งหมดของโปรตีนถั่วเขียวหลังจากฉายรังสี เท่ากับ 18 CFU/g ดังนั้นโปรตีนถั่วเขียวฉายรังสีจึงผ่านมาตรฐานจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค *Gordonia terrae* ลักษณะโคโลนีกลมสีส้มเข้ม ลักษณะรูปท่อนแกรมบวก สายพันธุ์ *Gordonia* อาศัยอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมและมักพบในดินและน้ำ ไม่พบ *G. terrae* อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข *Bacillus xiamenensis* ลักษณะโคโลนีกลมสีขาวขุ่น ลักษณะรูปท่อนแกรมบวก เคลื่อนที่ได้โดยแฟลกเจลลาได้ช้า ซึ่ง *B. xiamenensis* ไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข *Acinetobacter variabilis* ลักษณะโคโลนี กลมสีขาวขุ่น ลักษณะรูปท่อนแกรมลบ และไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข

เชื้อราที่พบในผงโปรตีนหลังผ่านการฉายรังสี ทำการคัดแยกด้วยวิธีการตัดเส้นใย และศึกษาลักษณะ สัณฐานวิทยาด้วยวิธีการ Slide culture เชื้อที่พบ ได้แก่ *Aspergillus fumigatus* ลักษณะเส้นใยเชื้อราสีเขียว สปอร์มีลักษณะสีเขียวอ่อน *A. fumigatus* และไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563) *Cladosporium* sp. ลักษณะเส้นใยเชื้อราสีเขียว สปอร์ มีลักษณะสีขาว *Cladosporium* เป็นราที่พบแพร่กระจาย อยู่ทั่วไป พบในพืชทุกชนิด รา และเศษซากพืชผักแยกได้จากดิน อาหาร สี สิ่งทอ และเศษซากอินทรีย์วัตถุ หรือจากโคลนของรา และไม่อยู่ในรายชื่อเชื้อก่อโรคของ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

การลดเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์ ผงโปรตีนถั่วเขียวสามารถดำเนินการได้ โดยการควบคุม กระบวนการผลิตโปรตีนถั่วเขียวภายในโรงงานให้ได้ตาม สุขลักษณะ จะช่วยลดปริมาณเชื้อตั้งต้น ทำให้ ประสิทธิภาพการทำลายจุลินทรีย์ปนเปื้อนโดยการฉาย รังสีสูงขึ้น อย่างไรก็ตามการนำโปรตีนถั่วเขียวไปใช้เป็น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรตีน ในรูปแบบของเครื่องดื่ม ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ชนิดเข้มข้นหรือชนิดแห้ง ยังคง ต้องอาศัยการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอีกหลาย ๆ ด้าน เช่น การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ การพัฒนารสชาติ การแต่งกลิ่น เป็นต้น

สรุปผลการวิจัย

โปรตีนถั่วเขียวมีสารอาหารที่หลากหลาย โดยเฉพาะโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย อยู่มาก การนำโปรตีนถั่วเขียวไปใช้ในด้านอาหารเสริม โปรตีนเพื่อสุขภาพจึงมีความเป็นไปได้ ซึ่งจะต้องมีการ ควบคุมกระบวนการผลิตและลดการปนเปื้อนโดยวิธีการ ฉายรังสี จากผลการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในโปรตีน ถั่วเขียวที่ผ่านการฉายรังสีแล้ว พบแบคทีเรียแกรมบวก จำนวน 5 ชนิด ระบุชื่อแล้ว 5 ชนิด ได้แก่ *Deinococcus*

ficus, *Gordonia*, *terrae*, *Staphylococcus warneri*, *Bacillus cereus*, *Bacillus xiamenensis* แบคทีเรีย แกรมลบ ระบุชื่อแล้ว 2 ชนิด คือ *Sphingomonas dokdonensis* และ *Acinetobacter variabilis* เชื้อรา ระบุชื่อแล้ว 2 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus fumigatus* และ *Cladosporium* sp. ยังไม่ได้ระบุชื่อ 1 ชนิด ได้แก่ Unknow B02 เมื่อจัดโปรตีนถั่วเขียวอยู่ในกลุ่มเครื่องดื่ม ในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ชนิดเข้มข้นหรือชนิดแห้ง สำหรับเครื่องดื่มธัญพืชและน้ำนมถั่วเหลือง สามารถพบ *B. cereus* ในผลิตภัณฑ์ได้ แต่ต้องไม่เกิน 100 ใน 1 กรัม (CFU/g) จากปริมาณเชื้อทั้งหมดของโปรตีนถั่วเขียว หลังจากฉายรังสี เท่ากับ 18 CFU/g ดังนั้นโปรตีนถั่วเขียว ฉายรังสีจึงผ่านมาตรฐานจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 416) พ.ศ. 2563)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้างหุ้นส่วนจำกัด โรงงานวันเส้น คลองขลุง กำแพงเพชร และศูนย์วิทยาศาสตร์และ วิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ในการสนับสนุน งบประมาณในการทำวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Bayer, C., H. Bernard, R. Prager, W. Rabsch, P. Hiller, B. Malorny, B. Pfefferkorn, C. Frank, A. de Jong, I. Friesema, K. Stark, and Bm. Rosner. 2014. An outbreak of *Salmonella* Newport associated with mung bean sprouts in Germany and The Netherlands, October to November 2011. **Eurosurveillance** 19(1): 20665. DOI: 10.2807/15607917.es2014.19.1.20665

- Brishti, F.H., S.Y. Chay, K. Muhammad, M.R. Ismail-Fitry, M. Zarei, S. Karthikeyan, and N. Saari. 2020. Effects of drying techniques on the physicochemical, functional, thermal, structural and rheological properties of mung bean (*Vigna radiata*) protein isolate powder. **Food Research International** 138: 1-13.
- Dahiya, P.K., AR. Linnemann, M.A.J.S. Van Boekel, N. Khetarpaul, R.B. Grewal and M.J.R. Nout. 2015. Mung bean: technological and nutritional potential. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 55(5): 670-688.
DOI: 10.1080/10408398.2012.671202.
- Hung, P.V., N.T.H. Yen, N.T.L. Phi, N.P.H. Tien, N.T.T. Trung. 2020. Nutritional composition, enzyme activities and bioactive compounds of mung bean (*Vigna radiata* L.) germinated under dark and light conditions. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie** 133: 1-8.
- Lacumin, L., F. Ginaldi, D. Andyanto, and C. Giuseppe. 2017. Microbial quality of raw and ready-to-eat mung bean Sprouts Produced in Italy. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. 3(1): 555601.
DOI: 10.19080/NFSIJ.2017.03.555601
- Mubarak, A.E. 2005. Nutritional composition and antinutritional factors of mung bean seeds (*Phaseolus aureus*) as affected by some home traditional processes. **Food Chemistry** 89: 489-495.
- Nagar, V., L.P. Godambe and R. Shashidhar. 2016. Development of microbiologically safe mung bean sprouts using combination treatment of sodium hypochlorite and gamma radiation. **International Journal of Food Science and Technology** 51: 595-601.
- Park, H., P. Puligundla and C. Mok. 2020. Microbial decontamination of mung bean sprouts using electrolyzed water and its effects on the physicochemical and sensory properties of the sprouts. **Chiang Mai Journal of Science** 47(1): 28-38.
- Peles, F. Z. Győri, T. Bácskai, Zs. Szabó, M. Murvai, B. Kovács. 2012. Microbiological quality of organic wheat grains and sprout. **Analele Universitatii din Oradea, Fascicula Protectia Mediului XVIII**: 53-60.
- Prokopowich, D. and G. Blank. 1991. Microbiological evaluation of vegetable sprouts and seeds. **Journal of Food Protection** 54(7): 560-562.
- Tang, D., Y. Dong, H. Ren, L. Li, and C. He. 2014. A review of phytochemistry, metabolite changes, and medicinal uses of the common food mung bean and its sprouts (*Vigna radiata*). **Chemistry Central Journal** 8(1): 1752-1753.