



**PROTEIN ENRICHMENT OF TRADITIONAL  
FERMENTED SOY SAUCE WITH ENZYME  
DIGESTED SOYBEAN MEAL**

**WANIDA SAEJUNG**

อธิปัทนการ  
จาก  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ม.มหิดล

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY**

**2000**

**ISBN 974-663-839-4**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

TH  
W 247 p  
2000  
C-2

44561 e.2

3936493 SCBT/M : MAJOR : BIOTECHNOLOGY ; M.Sc. (BIOTECHNOLOGY)

KEY WORD : SOYBEAN MEAL HYDROLYSATE / SOYBEAN MEAL / SOY SAUCE

WANIDA SAEJUNG : PROTEIN ENRICHMENT OF TRADITIONAL FERMENTED SOY SAUCE WITH ENZYME DIGESTED SOYBEAN MEAL. THESIS ADVISORS : AMARET BHUMIRATANA, Ph.D., TIMOTHY W. FLEGEL, Ph.D., NAPHA LOTONG, M.Sc., APINYA ASSAVANIG, Ph.D., 156 P. ISBN 974-663-839-4

Soy sauce is widely used in Thailand as a flavor enhancer. The quality of soy sauce is usually judged by consumers on its flavor and aroma. However, food registration agencies usually judge soy sauce on its protein content. Also, it is known that qualities as well as quantities of soluble protein in soy sauce contribute greatly to the proper development of flavor and aroma in soy sauce. Thus, the enhancement of soluble protein content in soy sauce products should have beneficial effects for consumers as well as manufacturers. In this study, protein enhancement was carried out by the addition of soybean meal hydrolysate.

Soybean meal hydrolysate (SBH) was prepared by enzymatic hydrolysis of defatted soybean meal (SBM), a by-product from the production of soybean oil, with Kojizyme™. The optimal conditions for hydrolysis of SBM were carried out by using Kojizyme™ at 2% of protein in SBM and a total solid content at 22% and then incubated at 50°C for 12 hr. The soluble protein content and degree of solubilization of SBH product were found at 8.4% and 63% in laboratory scale hydrolysis and 5.9% and 49% in large scale hydrolysis, respectively.

The SBH was used to supplement the protein content in soy sauce in two ways. The first involved the addition of clarified soybean meal hydrolysate (cSBH) directly to the final soy sauce product. The second way involved addition of SBH during various stages of the moromi fermentation. Addition of cSBH to the final soy sauce product enhanced soluble protein content in final products but could not maintain traditional characteristics if too much cSBH was supplemented. When SBH was supplemented at primary and secondary moromi fermentation, it was found that the soluble protein content of the final product was greatly enhanced if the addition was done in the secondary moromi fermentation. In this way, the protein content increased over three fold when compared with the typical fermentation. The modified soy sauce obtained from secondary moromi fermentation gave acceptable characteristics in general appearance, odor, flavor, overall acceptability and taste at the probability level of  $P > 0.05$ .

The estimated cost for production of one kg each of SBH and cSBH was calculated to be at 9.50 and 13.52 Baht, respectively. Calculating the cost for production of modified soy sauce, it was shown that the addition of cSBH into finished soy sauce could save about 12.87 Baht per liter (Baht/L) for producing first grade soy sauce (3% protein) and save about 10.66 Baht/L for increasing the soluble protein content from 3% to 4% in the soy sauce product. In modified secondary cycle moromi fermentation, the addition of SBH provided a saving of 2 Baht/L for producing 3% protein soy sauce.

In spite of the small reduction in savings, SBH should be used with traditionally produced soy sauce to enhance soluble protein content, especially by addition at the secondary moromi fermentation. The soy sauce product from this modification provided significantly increased protein content and also provided a product with acceptable characteristics.

3936493 SCBT/M : สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ ; วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

วนิดา แซ่จิ่ง : การเพิ่มโปรตีนในซีอิ๊วขาวที่หมักด้วยวิธีดั้งเดิม ด้วยกากถั่วเหลืองที่ย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (PROTEIN ENRICHMENT OF TRADITIONAL FERMENTED SOY SAUCE WITH ENZYME DIGESTED SOYBEAN MEAL). คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : อมเรศ ภูมิรัตน, Ph.D., ทิมโมที เฟลเกล, Ph.D., นภา โล่ห์ทอง, M.Sc., อภิญญา อัครวนิก, Ph.D. 156 หน้า. ISBN 974-663-839-4

ในประเทศไทย มีการใช้ซีอิ๊วขาวกันอย่างแพร่หลายเพื่อเพิ่มรสชาติในอาหาร ผู้บริโภคมักจะตัดสินใจคุณภาพของซีอิ๊วขาวที่รสชาติและความหอม แต่กระนั้น หน่วยงานควบคุมคุณภาพอาหารมักจะตัดสินใจซีอิ๊วขาวที่ปริมาณโปรตีน เพราะทราบดีว่าคุณภาพและปริมาณของโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในซีอิ๊วขาวนั้น จะนำไปสู่การปรับปรุงที่เหมาะสมของรสชาติและความหอมของซีอิ๊วขาว ดังนั้น การเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในซีอิ๊วขาว น่าจะส่งผลดีต่อทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค ในการศึกษาครั้งนี้ จึงศึกษาถึงการเพิ่มโปรตีนในซีอิ๊วขาวด้วยการเติม ซอยบินมีลไฮโดรไลเซท

ซoyบินมีลไฮโดรไลเซทเตรียมโดยการย่อยกากถั่วเหลือง (ผลพลอยได้จากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง) ด้วยเอนไซม์ Kojizyme™ สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยกากถั่วเหลืองคือใช้ Kojizyme™ จำนวน 2% ของปริมาณโปรตีนในกากถั่วเหลือง, ปริมาณของแข็งรวม 22% หลังจากนั้นบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้และระดับการละลายน้ำได้ของซoyบินมีลไฮโดรไลเซท คือ 8.4% และ 63% ในการย่อยในระดับห้องทดลอง และ 5.9% และ 49% ในการย่อย ในระดับใหญ่, ตามลำดับ

ซoyบินมีลไฮโดรไลเซทได้นำไปเพิ่มปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วขาวในสองรูปแบบ แบบแรกคือเติม ส่วนใสของซoyบินมีลไฮโดรไลเซท ลงไปในผลผลิตซีอิ๊วโดยตรง แบบที่สอง คือการเติมซoyบินมีลไฮโดรไลเซทลงไปในระยะต่าง ๆ ของขั้นตอนการหมักโมโรมิ การเติมส่วนใสของ ซoyบินมีลไฮโดรไลเซทลงไปในซีอิ๊วสำเร็จ สามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ ในผลผลิตสุดท้าย แต่ไม่สามารถคงไว้ซึ่งคุณสมบัติของซีอิ๊วขาวที่หมักแบบธรรมชาติ ถ้า มีการเติมส่วนใสของ ซoyบินมีลไฮโดรไลเซทมากเกินไป เมื่อเติมซoyบินมีลไฮโดรไลเซทลงในการหมักโมโรมิของซีอิ๊วขาวรอบที่หนึ่ง และรอบที่สองพบว่า ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในผลผลิตสุดท้ายจะเพิ่มขึ้นอย่างมาก ถ้าการเติมนั้นเติมลงไปในการหมักโมโรมิรอบที่สอง โดยจะเพิ่มขึ้นกว่าสามเท่าเมื่อเทียบกับปริมาณที่ได้ในการหมักแบบปกติ โดยซีอิ๊วขาวที่ได้จากการคิดแปลงโดยการเติมซoyบินมีลไฮโดรไลเซทลงในการหมักโมโรมิรอบที่สองนั้นให้ลักษณะที่ยอมรับได้ในด้านลักษณะปรากฏโดยรวม, กลิ่น, กลิ่นรส, รสชาติและ การยอมรับ โดยรวมที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

การประมาณค่าใช้จ่ายสำหรับการผลิตซoyบินมีลไฮโดรไลเซท และส่วนใสของซoyบินมีลไฮโดรไลเซทต่อหนึ่งกิโลกรัมมีค่าเท่ากับ 13.52 และ 9.50 บาท ตามลำดับ เมื่อคำนวณค่าใช้จ่ายในการผลิตซีอิ๊วขาวคิดแปลง พบว่าการเติมส่วนใสของซoyบินมีลไฮโดรไลเซทลงไปในซีอิ๊วสำเร็จสามารถประหยัดได้ 12.87 บาทต่อลิตรสำหรับการผลิตซีอิ๊วขาวเกรดหนึ่ง (3% โปรตีน) และประหยัดได้ 10.66 บาทต่อลิตรสำหรับการเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ในซีอิ๊วขาวจาก 3% เป็น 4% การเติมซoyบินมีลไฮโดรไลเซทในขั้นการหมักโมโรมิรอบที่สองสามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้ 2 บาทต่อลิตรในการผลิตซีอิ๊วขาวที่มีปริมาณโปรตีน 3%

ทั้ง ๆ ที่สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้เพียงเล็กน้อย แต่ซoyบินมีลไฮโดรไลเซทก็ยังสามารถใช้เติมลงในซีอิ๊วขาวที่ผลิตโดยวิธีดั้งเดิมเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเติมลงในการหมักโมโรมิรอบที่สอง ซึ่งซีอิ๊วขาวที่ได้จากการคิดแปลงนี้มีการเพิ่มปริมาณโปรตีนอย่างเห็นได้ชัด รวมทั้งให้ผลผลิตที่มีคุณสมบัติที่ยอมรับได้อีกด้วย