บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 การพัฒนาระบบการตรวจสอบดีเอ็นเอที่สามารถตรวจสอบการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบได้

4.1.1 การออกแบบไพรเมอร์สำหรับตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอ

จากข้อมูลลำดับพันธุกรรมที่ได้จากยีน *lectin* (GeneBank accession no. K00821) (Vodkin และคณะ, 1983) พบว่าไพรเมอร์มาตรฐานที่นำมาใช้กับวิธีการตรวจของรัฐบาลเยอรมันและสวิตเซอร์แลนด์อยู่ในช่วงลำดับเบส 1215 ถึง 1333 นิวคลีโอไทด์ของยีน *lectin* ดังนั้นจึงเลือกให้ความสำคัญกับบริเวณใกล้เคียงดังกล่าวเป็นหลัก การทำนายเพื่อหาบริเวณออกแบบไพรเมอร์ที่เหมาะสมด้วยโปรแกรม primer3 ได้ข้อมูลที่สอดคล้องกับเงื่อนไขที่ต้องการความจำเพาะต่อขนาดดีเอ็นเอแม่แบบใกล้เคียงขนาด 100, 300 และ 800 นิวคลีโอไทด์ เป็นดังตารางที่ 3-5 ไพรเมอร์ที่ออกแบบทั้งหมดจะมีความจำเพาะกับดีเอ็นเอแม่แบบในระหว่างนิวคลีโอไทด์ที่ 966 ถึง1791

ตารางที่ 3 ไพรเมอร์คัดเลือกที่จำเพาะต่อดีเอ็นเอแม่แบบขนาด 119 นิวคลีโอไทด์

ชื่อ	ลำดับนิวคลีโอไทด์	บริเวณส่วนของยีน *lectin* ที่เกี่ยวข้อง	ขนาด (นิวคลีโอไทด์)
GM03	5′-GCCCTCTACTCCACCCCCATCC-3′	1215-1236	22
GM04	5′-AGCCCATCTGCAAGCCTTTTTGTGTC-3′	1308-1333	26

ในกรณีที่ต้องการตรวจสอบการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบที่ขนาดใกล้เคียง 100 นิวคลีโอไทด์ เลือกใช้คู่ไพรเมอร์ GM03 และ GM04 ที่จำเพาะกับขนาดดีเอ็นเอของยีน *lectin* ในระหว่างนิวคลีโอไทด์ 1215-1333 รวม 119 นิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 4 ไพรเมอร์คัดเลือกที่จำเพาะต่อดีเอ็นเอแม่แบบขนาด 327 นิวคลีโอไทด์

ชื่อ	ลำดับนิวคลีโอไทด์	บริเวณส่วนของยีน *lectin* ที่เกี่ยวข้อง	ขนาด (นิวคลีโอไทด์)
Le0	5′-GCAATGGCTACTTCAAAGTTGAAAACC-3′	966-992	27
Le1	5′-GAAGTTGAAGGAAGCGGCGAAGCTGG-3′	1267-1292	26

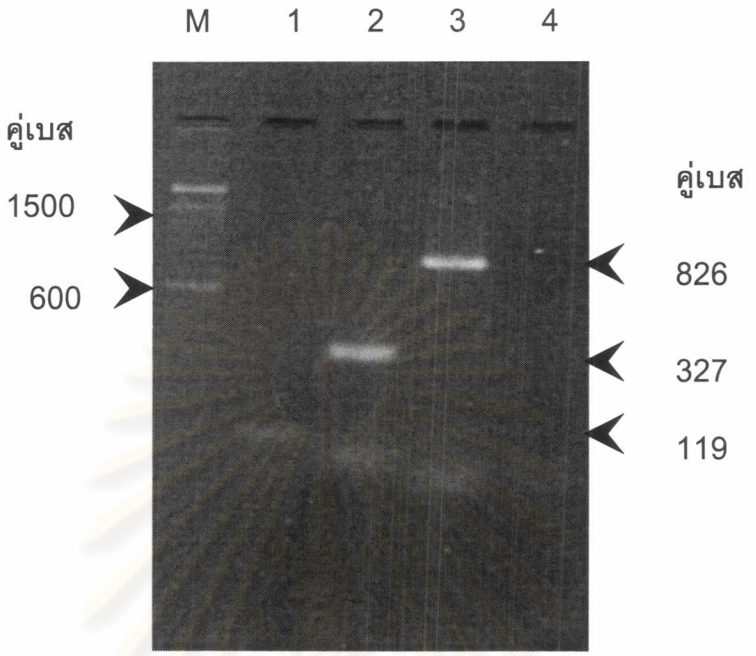
สำหรับการตรวจสอบการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบที่ขนาดใกล้เคียง 300 นิวคลีโอไทด์ เลือกใช้คู่ไพรเมอร์ Le0 และ Le1 ที่จำเพาะกับขนาดดีเอ็นเอของยีน *lectin* ในระหว่างนิวคลีโอไทด์ 966-1292 รวม 327 นิวคลีโอไทด์

ตารางที่ 5 ไพรเมอร์คัดเลือกที่จำเพาะต่อดีเอ็นเอแม่แบบขนาด 826 นิวคลีโอไทด์

ชื่อ	ลำดับนิวคลีโอไทด์	บริเวณส่วนของยีน *lectin* ที่เกี่ยวข้อง	ขนาด (นิวคลีโอไทด์)
Le0	5′-GCAATGGCTACTTCAAAGTTGAAAACC-3′	966-992	27
Le2	5′-CCAAAGGATCAATGTTACTGCTAGC-3′	1767-1791	25

และการตรวจสอบการลดลงของขนาดดีเอ็นเอแม่แบบที่ขนาดใกล้เคียง 800 นิวคลีโอไทด์ เลือกใช้คู่ไพรเมอร์ Le0 และ Le2 ที่จำเพาะกับขนาดดีเอ็นเอของยีน *lectin* ในระหว่างนิวคลีโอไทด์ 966-1791 รวม 826 นิวคลีโอไทด์

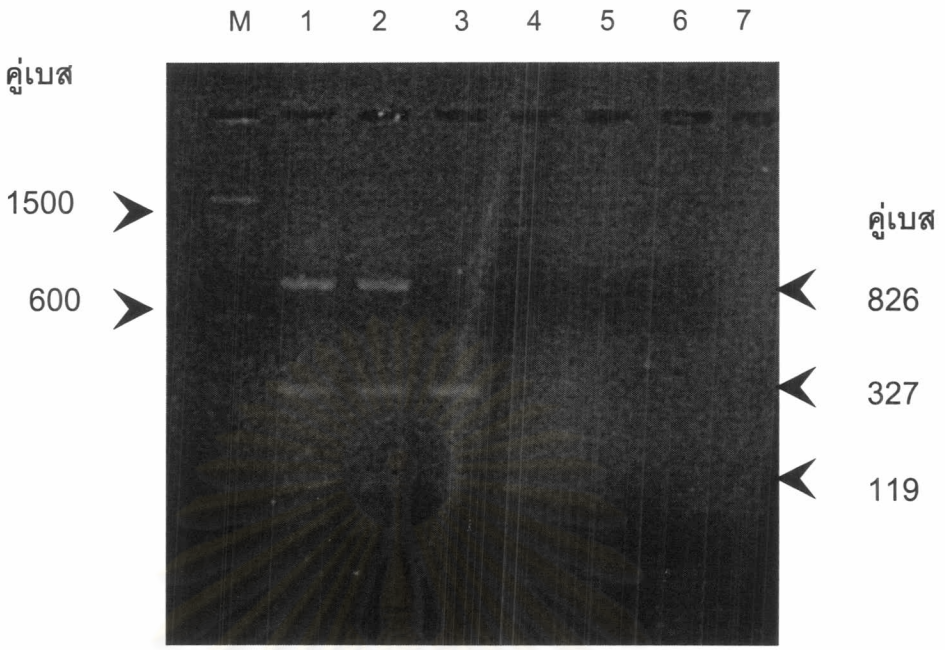
เมื่อนำไพรเมอร์ทั้ง 3 คู่ดังกล่าวไปทดสอบการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอจากจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองไม่ผ่านกระบวนการ ซึ่งดีเอ็นเอที่ได้ยังไม่ย่อยสลายจนมีขนาดเล็กลงอันเป็นผลเนื่องจากการผ่านกระบวนการ พบว่าสามารถตรวจสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอขนาดเดียวกับที่คาดทางทฤษฎี คือ 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ได้ (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 การตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้นจากการเพิ่มปริมาณของจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านกระบวนการโดยการตรวจที่ยีน *lectin* ในขนาดต่างกัน สำหรับช่องที่ 1, 2 และ 3 เป็นยีน *lectin* ขนาด 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ ช่อง M เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder) และช่องที่ 4 เป็นชุดควบคุมการปนเปื้อน (น้ำกลั่นปลอดเชื้อ)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดสอบต่อเนื่องเพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอของจีโนมิกดีเอ็นเอที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิ 200, 210, 220 และ 230°ซ ซึ่งเป็นกระบวนการเลียนแบบการแปรรูปโดยคาดว่าที่ภาวะดังกล่าวจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองจะย่อยสลายจนมีขนาดเล็กลง พบว่าสามารถตรวจสอบแถบดีเอ็นเอจำเพาะที่มีขนาด 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ได้แตกต่างกันไปทั้งนี้ขึ้นอยู่กับภาวะอุณหภูมิที่ให้ โดยไม่พบแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะ (รูปที่ 8)



รูปที่ 8 การตรวจสอบประสิทธิภาพของวิธีที่พัฒนาขึ้นจากการเพิ่มปริมาณของจีโนมิกดีเอ็นเอถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเป็นเวลา 5 นาที โดยการตรวจที่ยีน *lectin* ด้วยความจำเพาะของไพรเมอร์ที่ให้ขนาด 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อน (positive control)

ช่องที่ 2 ผลการเพิ่มปริมาณจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 200°ซ

ช่องที่ 3 ผลการเพิ่มปริมาณจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 210°ซ

ช่องที่ 4 ผลการเพิ่มปริมาณจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 220°ซ

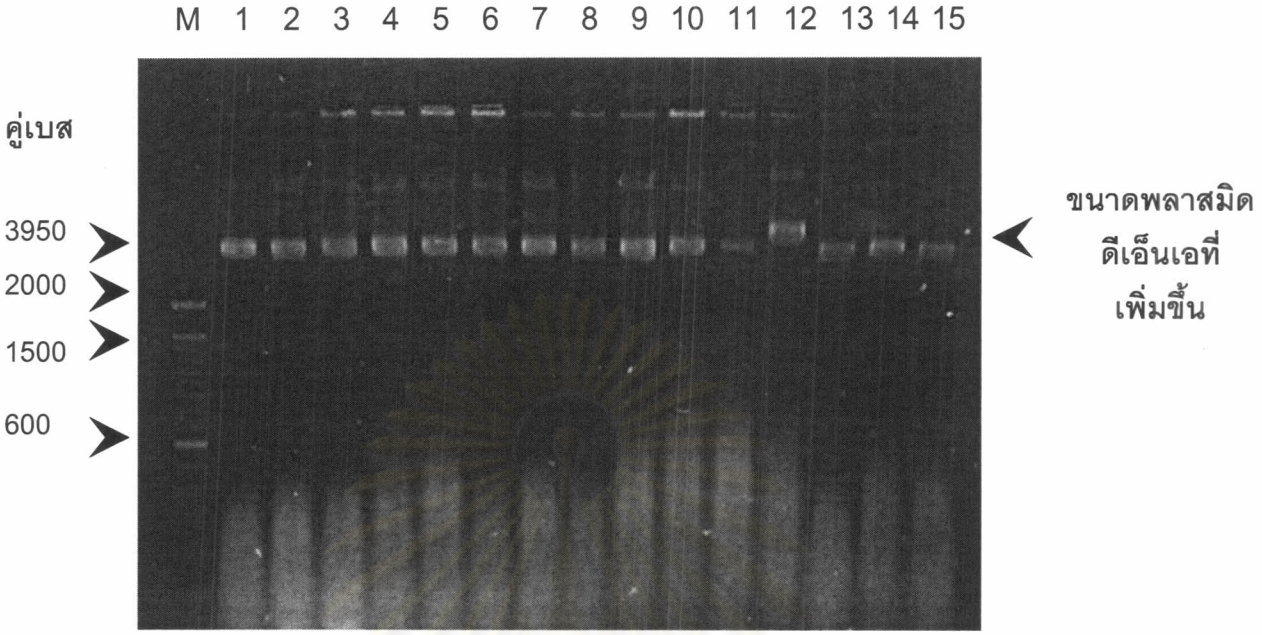
ช่องที่ 5 ผลการเพิ่มปริมาณจีโนมิกดีเอ็นเอของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 230°ซ

ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลือง (negative non template control)

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)

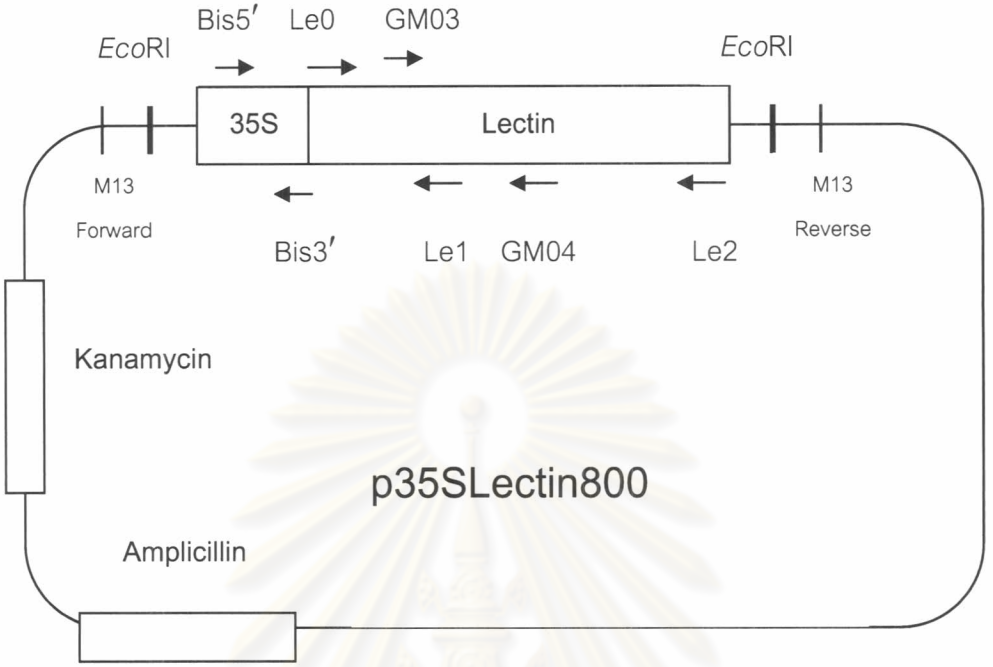
4.1.2 การสร้างโมเลกุลมาตรฐานสำหรับการทดสอบ

ภายหลังการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอเฉพาะโดยใช้ดีเอ็นเอที่ได้จากจีโนมของถั่วเหลืองเป็นแม่แบบจะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 800 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของยีน *lectin* และชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาด 400 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของ 35S promoter เมื่อนำแถบดีเอ็นเอ็นทั้งสองมาทำปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ T4 DNA polymerase จนเสร็จสิ้น สกัดด้วยฟีนอล และตกตะกอนดีเอ็นเอแล้วนำแถบดีเอ็นเอทั้งสองมาต่อเชื่อมด้วย ligase และนำส่วนหนึ่งของปฏิกิริยาไปเพิ่มปริมาณโดยใช้ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อบริเวณ 5′ ของ 35S promoter (5′-CTACTCCAAAATGTCAAAGATACAG-3′) และไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อบริเวณ 3′ ของยีน *lectin* (5′-CCAAAGGATCAATGTTACTGCTAGC-3′) จะได้ชิ้นส่วนดีเอ็นเอขนาดประมาณ 1200 นิวคลีโอไทด์ และเมื่อตัดชิ้นส่วนของเจลที่มีขนาด 1200 นิวคลีโอไทด์นี้มาเพิ่มปริมาณต่ออีกครั้งจะได้แถบดีเอ็นเอจำเพาะขนาด 1200 นิวคลีโอไทด์ในปริมาณที่มากพอที่จะนำไปโคลนเข้าสู่พลาสมิดได้ ภายหลังจากที่นำแถบดีเอ็นเอมาตกตะกอนแล้วมาโคลนเข้าสู่พลาสมิดตามหลักการ TOPO ที่อธิบายในชุดสำเร็จรูปโดยใช้พลาสมิด pCR®II-TOPO® และคัดเลือกโคโลนีที่ได้โดยอาศัยความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะกานามัยซิน พบว่าสามารถคัดเลือกโคโลนีได้ 15 โคโลนี การตรวจสอบต่อเนื่องเพื่อคัดเลือกโคโลนีที่ได้รับชิ้นส่วนของยีนขนาด 1200 นิวคลีโอไทด์ในเบื้องต้นทำโดยการเปรียบเทียบขนาดของดีเอ็นเอที่ได้จากพลาสมิดภายหลังการทำ small scale plasmid DNA preparation กับพลาสมิดปกติที่ไม่ได้รับชิ้นส่วนของยีน ทำการคัดเลือกเฉพาะพลาสมิดดีเอ็นเอที่ต้องการซึ่งในการทดลองได้เลือกพลาสมิดดีเอ็นเอในช่องที่ 12 ที่มีขนาดพลาสมิดดีเอ็นเอใหญ่กว่า 3950 นิวคลีโอไทด์ซึ่งเป็นขนาดของพลาสมิดดีเอ็นเอพาหะ (รูปที่ 9) จึงนำพลาสมิดดีเอ็นเอนี้ไปตรวจสอบต่ออีกครั้งด้วยไพรเมอร์จำเพาะ Bis5′/Le2 โดยเทคนิค PCR พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่มีขนาด 1200 นิวคลีโอไทด์ได้ ซึ่งแสดงถึงความสำเร็จในการโคลนชิ้นส่วนของยีนดังกล่าว และได้ตั้งชื่อพลาสมิดที่ได้นี้ว่า p35SLectin 800 โดยมีโครงสร้างแสดงดังในรูปที่ 10



รูปที่ 9 การตรวจสอบโคลนของพลาสมิดดีเอ็นเอที่ได้รับชิ้นส่วนของยีน 35S promoter และยีน *lectin* จากโคโลนีที่มีความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะกานามัยซิน 15 โคโลนี ช่อง M เป็นดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder) ช่องที่ 1-15 เป็นโคลนของพลาสมิดดีเอ็นเอที่สกัดได้จากโคโลนีที่มีความสามารถในการต้านทานยาปฏิชีวนะกานามัยซิน

การตรวจสอบการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยพลาสมิด p35SLectin800 แม่แบบโดยใช้คู่ไพรเมอร์จำเพาะทั้ง 3 คู่ในข้อ 4.1.1 พบแถบดีเอ็นเอขนาด 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ สอดคล้องกับขนาดที่คาดการณ์ไว้ ดังนั้นจึงนำพลาสมิดดังกล่าวไปใช้ร่วมกับการตรวจสอบที่พัฒนาขึ้นเพื่อเป็นตัวควบคุมบวก (positive control)



รูปที่ 10 โครงสร้างหลักของพลาสมิด p35SLectin800 ซึ่งประกอบด้วยส่วนของโปรโมเตอร์ (35S promoter) ส่วนของยีน *lectin* และยีน *kanamycin* และ *Amplicillin* ส่วนที่ใช้ในการคัดเลือกเซลล์ โดยมีคู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะในการเพิ่มปริมาณคือ Bis5′/Bis3′, GM03/GM04, Le0/Le1 และ Le0/Le2 ตามลำดับ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 การศึกษาภาวะในกระบวนการแปรรูปที่มีผลต่อขนาดของดีเอ็นเอจากตัวอย่างเน้นความร้อน การนึ่งความดัน การต้มเป็นระยะเวลานาน และการหมัก โดยระบบการตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบที่พัฒนาขึ้น

4.2.1 การตรวจสอบคุณภาพและวัดปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่าง

เมื่อนำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลืองและอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูปในรูปแบบต่างๆ มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260, 280 และ 320 นาโนเมตร เพื่อดูคุณภาพ ความบริสุทธิ์ และปริมาณของดีเอ็นเอที่สกัดได้ โดยแยกพิจารณาตามกระบวนการแปรรูปถั่วเหลือง ดังนี้

4.2.1.1 เมล็ดถั่วเหลืองที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวนการแปรรูป

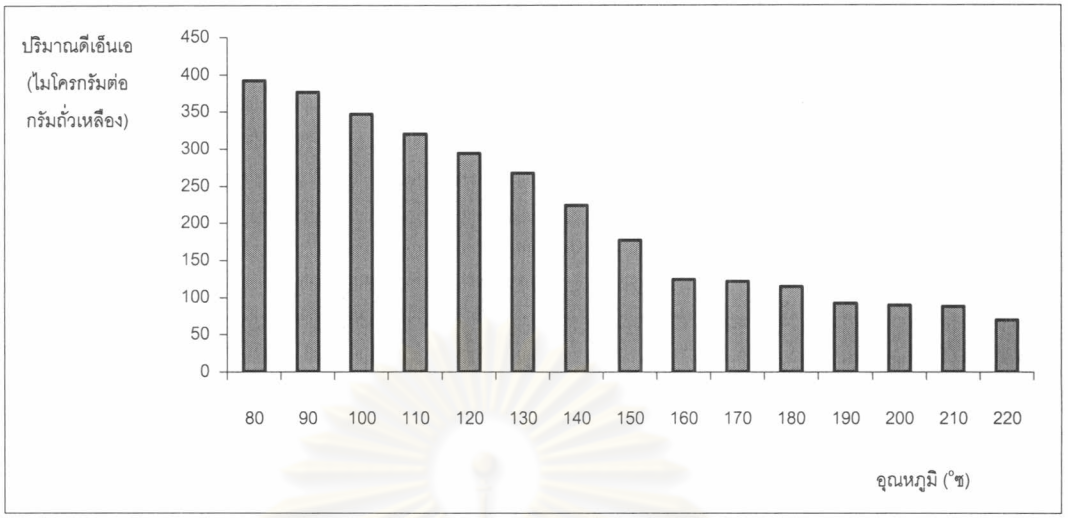
ดีเอ็นเอที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ยังไม่ได้ผ่านกระบวนการแปรรูปนั้นจะอยู่ในช่วง 300-400 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง

4.2.1.2 เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปโดยใช้ความร้อน

4.2.1.2.1 การอบแห้ง

เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ ตั้งแต่ 80-220°ซ เป็นระยะเวลา 5 นาที พบว่าจะมีปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ลดลงโดยปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จะแปรผกผันกับภาวะของการอบแห้ง โดยอยู่ในช่วง 70-390 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง ดีเอ็นเอจะมีปริมาณลดลงเมื่ออุณหภูมิในการอบแห้งเพิ่มขึ้นในทุกกรณีตามลำดับ (รูปที่ 11)

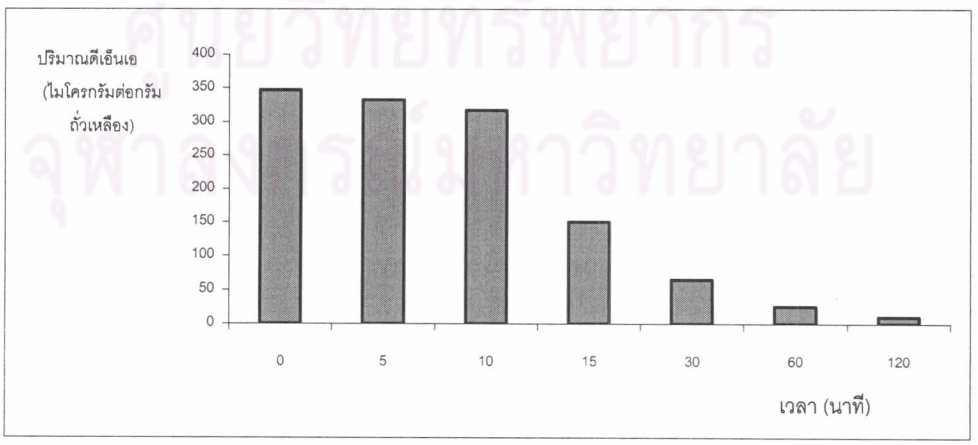
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ กันตั้งแต่ 80-220°ซ เป็นระยะเวลา 5 นาที

4.2.1.2.2 การนึ่งความดัน

เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^2 เป็นเวลาต่างๆ กันคือ 0, 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาที พบว่าจะมีปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ลดลงโดยปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จะแปรผกผันกับภาวะการผลิตเช่นเดียวกับการอบแห้ง ปริมาณดีเอ็นเอจะอยู่ในช่วง 10.6-350 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลืองน้อยกว่าผลจากการอบแห้ง และดีเอ็นเอจะมีปริมาณลดลงเมื่อเวลาในการนึ่งความดันเพิ่มขึ้นในทุกกรณีตามลำดับ (รูปที่ 12)



รูปที่ 12 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้(ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งความดันที่เวลาต่างกัน (0-120 นาที)

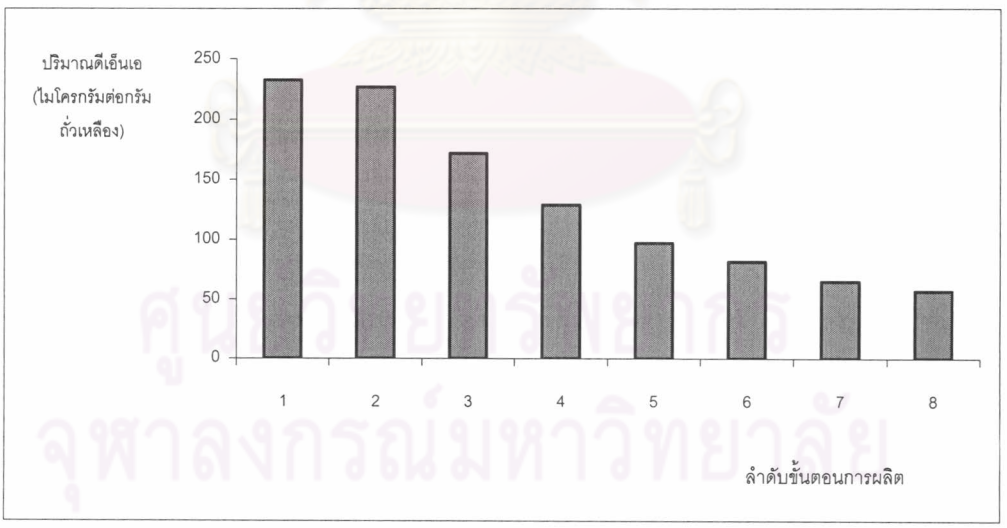
4.2.1.2.3 การต้มในกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง

4.2.1.2.3.1 การจำลองการต้มน้ำนมถั่วเหลือง

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลืองภายหลังจากผ่านแต่ละขั้นตอนของการจำลองการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองซึ่งประกอบด้วย

1. ขั้นตอนของน้ำที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรองเมื่อปั่นถั่วแล้ว
2. ขั้นตอนของกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง
3. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที
4. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
5. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลา 5 ชั่วโมง
6. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลา 10 ชั่วโมง
7. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลา 15 ชั่วโมง
8. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลา 20 ชั่วโมง

วัดปริมาณดีเอ็นเอได้ดังรูปที่ 13



รูปที่ 13 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากถั่วเหลืองที่ผ่านการจำลองต้มน้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอน

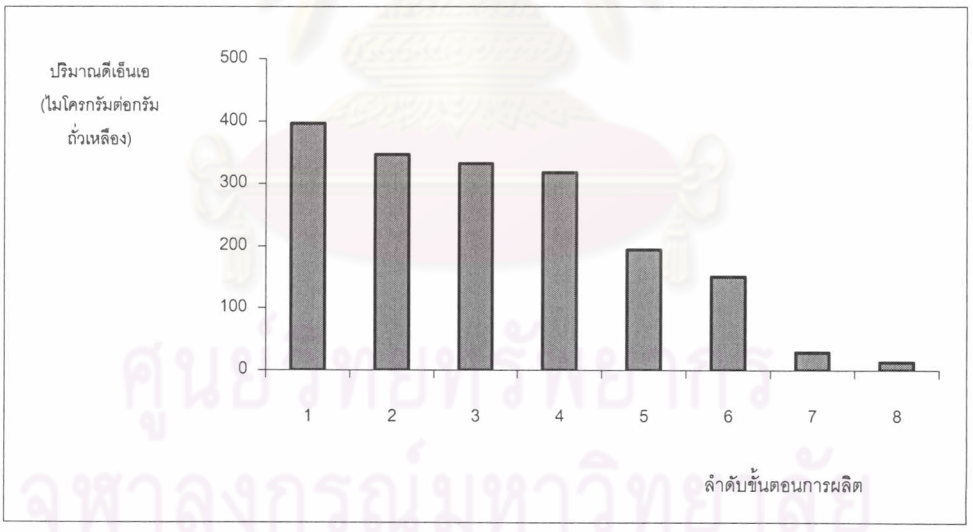
จากการทดลองพบว่าปริมาณดีเอ็นเอจะมีปริมาณลดลงเมื่อขั้นตอนการผลิตเพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในช่วง 58-235 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง

4.2.1.2.3.2 น้ำนมถั่วเหลืองจากอุตสาหกรรมการผลิตจริง

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากตัวอย่างที่ได้รับจากกระบวนการผลิตจริงในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองของผู้ประกอบการในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิต ซึ่งประกอบด้วย

1. ขั้นตอนภายหลังจากการแช่ถั่วเหลือง
2. ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรอง
3. ขั้นตอนของกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง
4. ขั้นตอนก่อนพาสเจอร์ไรซ์
5. ขั้นตอนหลังพาสเจอร์ไรซ์
6. ขั้นตอนก่อนโฮโมจีไนซ์
7. ขั้นตอนหลังโฮโมจีไนซ์
8. ขั้นตอนหลังการทำ UHT

วัดปริมาณดีเอ็นเอได้ดังรูปที่ 14



รูปที่ 14 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากตัวอย่างถั่วเหลืองที่ผ่านการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองของอุตสาหกรรมในแต่ละขั้นตอน

จากการทดลองพบว่าปริมาณดีเอ็นเอมีปริมาณลดลงเมื่อเข้าสู่ขั้นตอนการผลิตที่เพิ่มมากขึ้น โดยปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้อยู่ในช่วง 13-400 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง

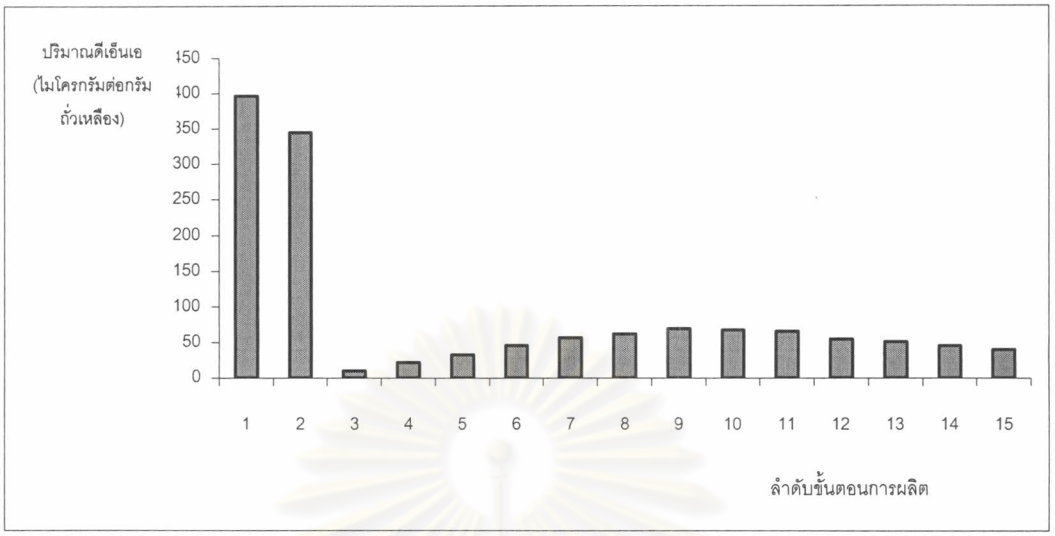
4.2.1.3 เมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปโดยการหมัก

4.2.1.3.1 ผลิตภัณฑ์ซีอิ้ว

ดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลืองและน้ำซีอิ้วในขั้นตอนการผลิตซีอิ้วซึ่งประกอบด้วย

1. ถั่วเหลืองที่ได้ภายหลังจากการแช่น้ำข้ามคืน
2. ถั่วเหลืองที่ได้ภายหลังจากการต้มเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 1 วัน
4. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 2 วัน
5. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 3 วัน
6. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 4 วัน
7. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 5 วัน
8. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน
9. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน
10. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา30 วัน
11. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา60 วัน
12. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา90 วัน
13. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา120วัน
14. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา150วัน
15. น้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา180วัน

ดีเอ็นเอที่สกัดได้มีปริมาณในช่วง 10-400 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง โดยในขั้นตอนแรกก่อนการหมักจะมีปริมาณดีเอ็นเอที่สูงในช่วง 300-400 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง แต่เมื่อตรวจสอบปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จากน้ำซีอิ้วภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 1 วัน พบว่าดีเอ็นเอมีปริมาณที่ต่ำมาก (10 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) ปริมาณดีเอ็นเอที่พบในน้ำซีอิ้วเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น (รูปที่ 15) สามารถสังเกตได้ว่าดีเอ็นเอของถั่วเหลืองยังไม่มีการแพร่เข้าสู่น้ำหมักภายหลังจากการหมักในช่วงแรกๆ แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการหมักในช่วงต่อมาปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้กลับมีปริมาณลดลง โดยเฉพาะภายหลังการหมักเป็นเวลา 1 เดือนเป็นต้นไป



รูปที่ 15 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากถั่วเหลืองและน้ำซีอิ้วที่ผ่านกระบวนการหมักในแต่ละขั้นตอน

4.2.1.3.2 **ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว**

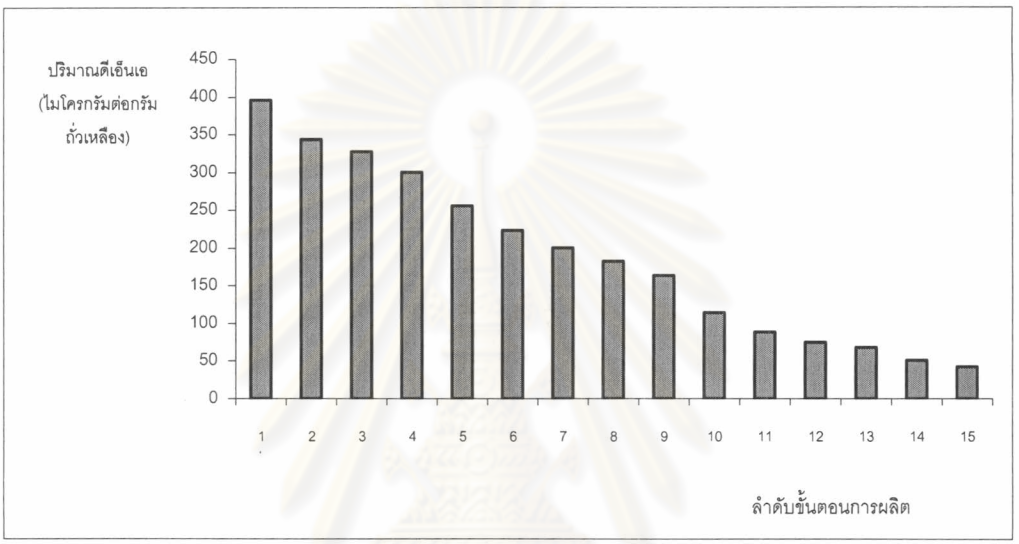
ขณะเดียวกันดีเอ็นเอที่สกัดได้จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านแต่ละขั้นตอนของการผลิตเต้าเจี้ยว ซึ่งประกอบด้วย

1. ถั่วเหลืองที่ได้ภายหลังจากการแช่น้ำข้ามคืน
2. ถั่วเหลืองที่ได้ภายหลังจากการต้มเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 1 วัน
4. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 2 วัน
5. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 3 วัน
6. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 4 วัน
7. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 5 วัน
8. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 6 วัน
9. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน
10. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 30 วัน
11. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 60 วัน
12. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 90 วัน
13. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 120 วัน

14. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 150 วัน

15. ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 180 วัน

พบว่าปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้จะมีปริมาณลดลงเมื่อขั้นตอนและเวลาของการหมักเพิ่มมากขึ้นตามลำดับซึ่งต่างจากปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ในการทดลองในส่วนของซีอิ้ว (รูปที่ 16) ปริมาณดีเอ็นเอรวมที่สกัดได้อยู่ในช่วง 40-400 ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง



รูปที่ 16 ปริมาณดีเอ็นเอที่สกัดได้ (ไมโครกรัมต่อกรัมถั่วเหลือง) จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักเป็นเต้าเจี้ยวในแต่ละขั้นตอน

4.2.2 **การทดสอบผลกระทบของกระบวนการแปรรูปต่อขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบที่อยู่ในเนื้ออาหารโดยใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบต่างกัน โดยวิธี** PCR

เมื่อทดสอบผลกระทบของกระบวนการแปรรูปต่อขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบที่อยู่ในเนื้ออาหารโดยใช้ระบบที่พัฒนาขึ้นในการตรวจสอบขนาดของดีเอ็นเอแม่แบบต่างกันคือ 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ โดยวิธี PCR พบว่าขนาดของดีเอ็นเอมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีขนาดลดลงเมื่อกระบวนการผลิตดำเนินไปในระดับที่สูงขึ้น โดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.2.2.1 การแปรรูปถั่วเหลืองโดยใช้ความร้อน

4.2.2.1.1 การอบแห้ง

ผลของการย่อยสลายขนาดของดีเอ็นเอจากการตรวจวิเคราะห์ยีน *lectin* ของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 80, 90, 100, 110, 120, 130, 140, 150 และ 160°ซ เป็นระยะเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที เป็นดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิระหว่าง 80 ถึง 160°ซ ที่เวลาต่างกันทุก 10 นาทีจาก 10 ถึง 60 นาที โดยวิธี PCR

ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง																		
เวลา (นาที) / **อุณหภูมิ (°ซ)**	**119 นิวคลีโอไทด์**						**327 นิวคลีโอไทด์**						**826 นิวคลีโอไทด์**					
	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60	10	20	30	40	50	60
80	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
90	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
100	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
110	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
120	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
130	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
140	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
150	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-
160	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

\- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

จากการทดลองพบว่าในภาวะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 130°ซ ระยะเวลา 60 นาที สามารถตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* ที่ 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ได้โดยวิธี PCR แต่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการอบสูงขึ้นเป็น 140°ซ เวลา 60 นาที พบว่ายีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 นิวคลีโอไทด์ และที่อุณหภูมิ 150°ซ เวลา 40 และ 60 นาทีพบว่ายีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ ส่วนที่อุณหภูมิ 160°ซ เวลา 30, 40 และ 60 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ

เมื่อให้อุณหภูมิที่สูงขึ้นยีน *lectin* มีขนาดลดลงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิระหว่าง 170 ถึง 220°ซ ที่เวลาต่างกันทุก 5 นาที จาก 5 ถึง 30 นาที โดยวิธี PCR

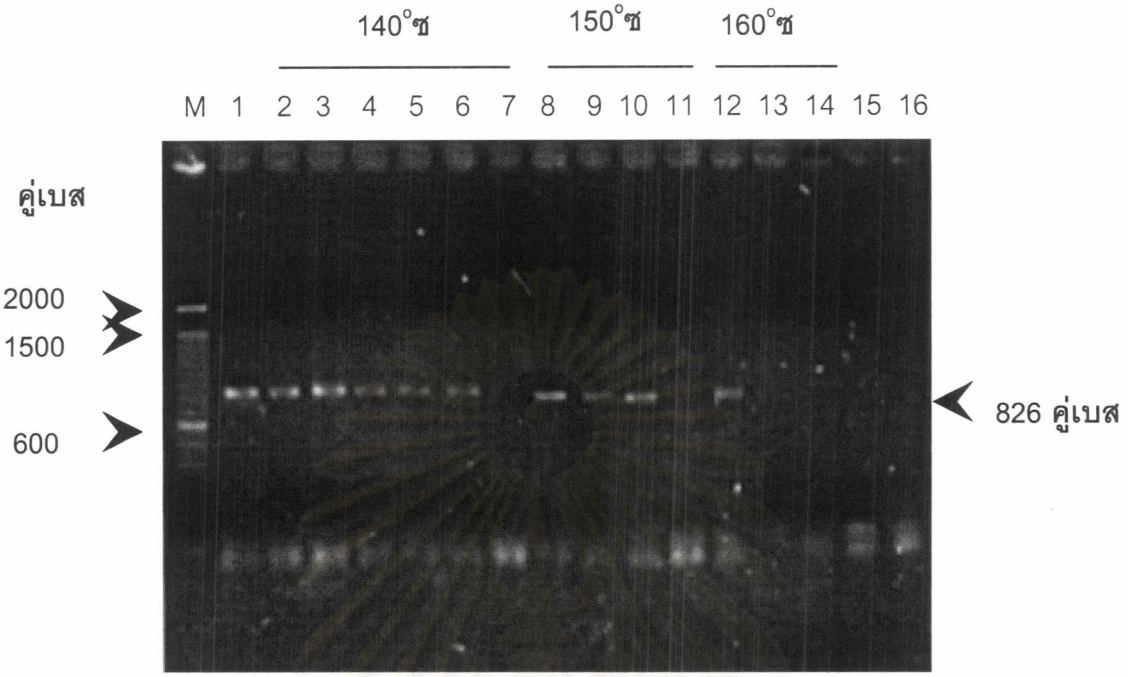
ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง																		
เวลา (นาที)	**119 นิวคลีโอไทด์**						**327 นิวคลีโอไทด์**						**826 นิวคลีโอไทด์**					
อุณหภูมิ (°ซ)	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30	5	10	15	20	25	30
170	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
180	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-
190	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
200	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
210	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
220	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

จากตารางแสดงถึงการตรวจสอบขนาดยีน *lectin* ของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170, 180, 190, 200, 210 และ 220°ซ เป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที พบว่าในภาวะการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170°ซ เวลา 25 และ 40 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ อุณหภูมิที่สูงขึ้นเป็น 180°ซ เวลา 15, 20 และ 25 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ ขณะที่อุณหภูมิ 190°ซ เวลา 15 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 นิวคลีโอไทด์เท่านั้น โดยที่อุณหภูมิ 200°ซ เวลา 10 และ 15 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 และ 119 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ ถ้าหากเพิ่มอุณหภูมิสูงเป็น 210°ซ แม้เพียงแค่ 5 และ 10 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงสุดเป็น 220°ซ เวลา 10 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำว่า 119 นิวคลีโอไทด์ โดยสามารถตรวจสอบยีน *lectin* ขนาด 119 นิวคลีโอไทด์ได้ แม้อบเป็นเวลา 5 นาทีก็ตาม (รูปที่17-22)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 17 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 140, 150 และ 160°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

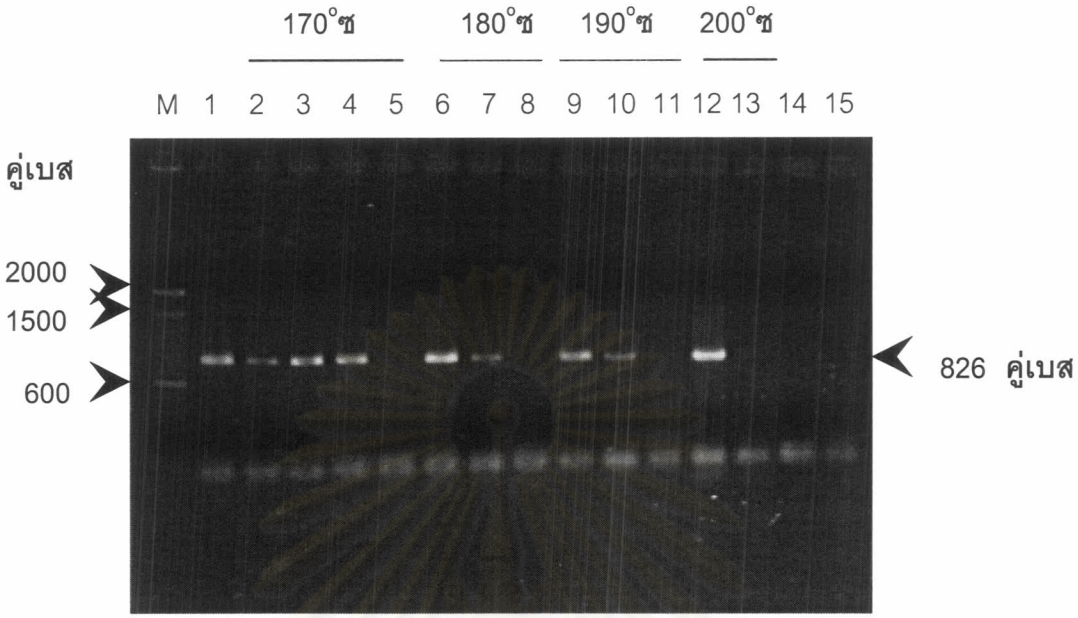
ช่องที่ 2-7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 140°ซ เป็นเวลา 10, 20, 30, 40,50 และ 60 นาที

ช่องที่ 8-11 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 150°ซ เป็นเวลา 10, 20, 30 และ 40 นาที

ช่องที่ 12-14 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 160°ซ เป็นเวลา 20, 30 และ 40 นาที

ช่องที่ 15 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 16 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 18 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170, 180, 190 และ 200°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2-5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170°ซ เป็นเวลา 10, 15, 20 และ 30 นาที

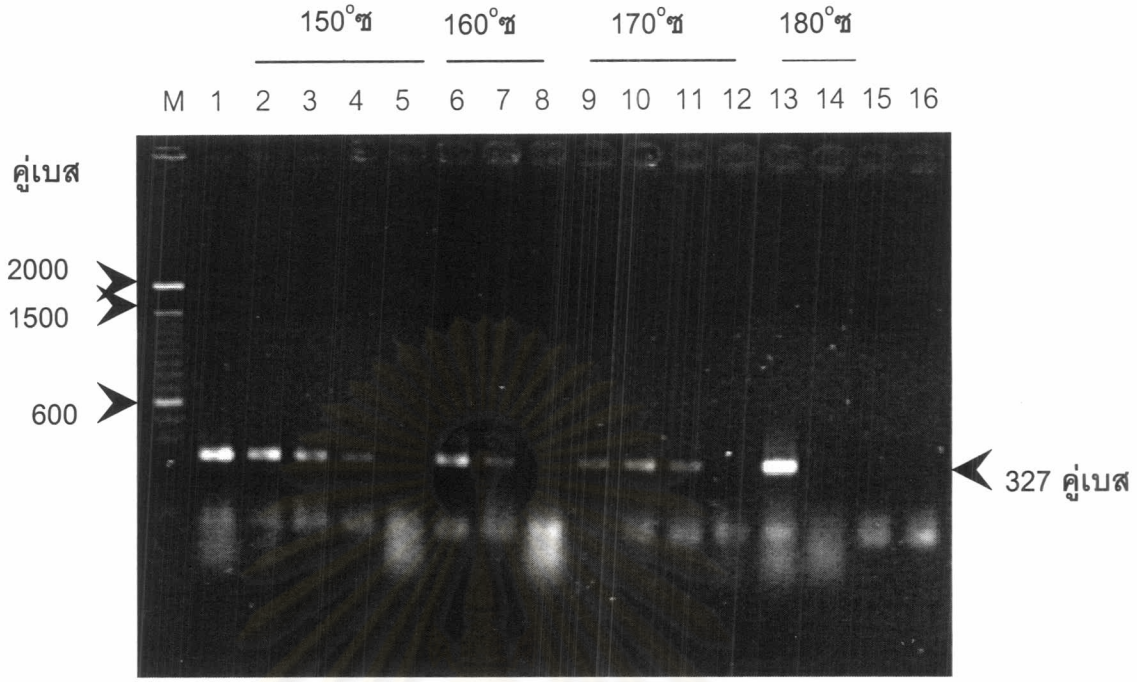
ช่องที่ 6-8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 180°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 9-11 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 12-13 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 200°ซ เป็นเวลา 5 และ 10 นาที

ช่องที่ 14 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 15 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 19 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 327 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 150, 160, 170 และ 180°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2-5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 150°ซ เป็นเวลา 30, 40, 50 และ 60 นาที

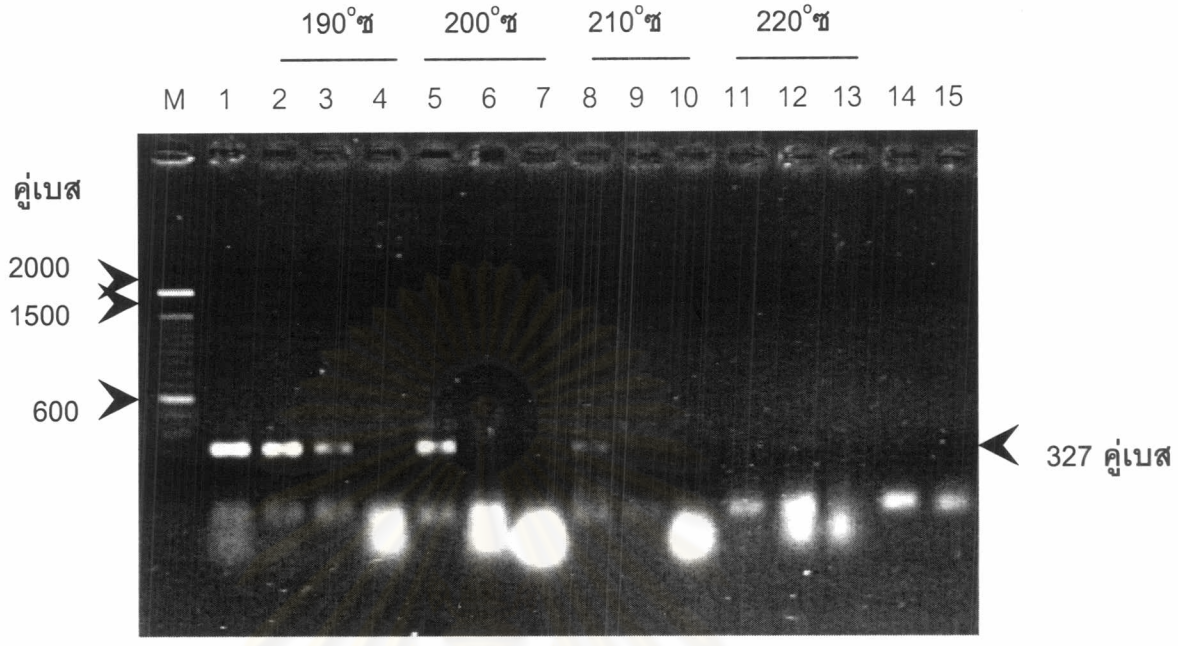
ช่องที่ 6-8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 160°ซ เป็นเวลา 10, 30 และ 60 นาที

ช่องที่ 9-12 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170°ซ เป็นเวลา 10, 20, 30 และ 40 นาที

ช่องที่ 13-14 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 180°ซ เป็นเวลา 15 และ 20 นาที

ช่องที่ 15 เป็นผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 16 เป็นผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 20 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 327 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190, 200, 210 และ 220°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2-4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

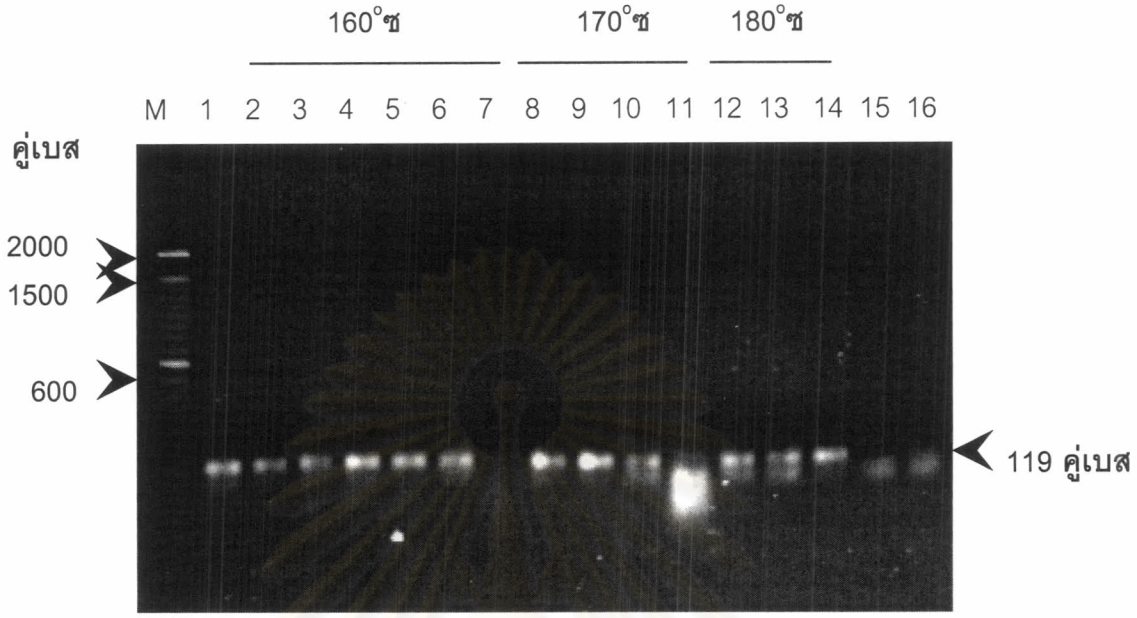
ช่องที่ 5-7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 200°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 8-10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 210°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 11-13 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 220°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 14 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 15 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 21 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 119 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 160, 170 และ 180°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1.5%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

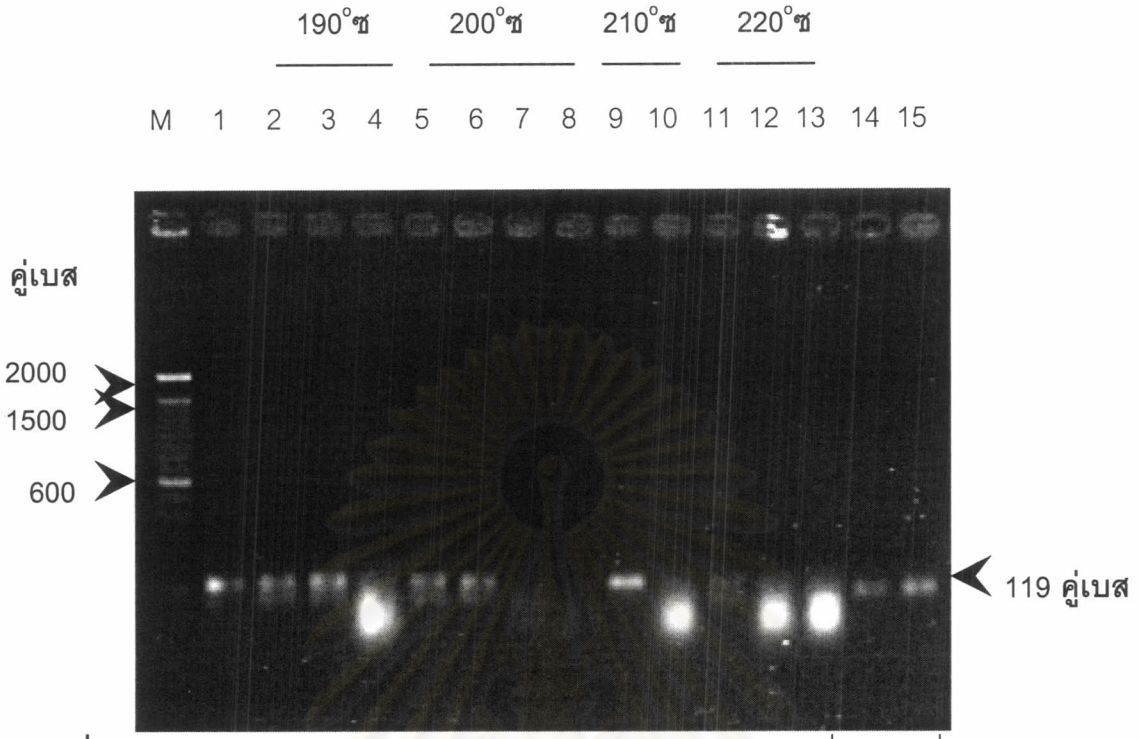
ช่องที่ 2-7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 160°ซ เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที

ช่องที่ 8-11 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 170°ซ เป็นเวลา 10, 20,30 และ 40 นาที

ช่องที่ 12-14 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 180°ซ เป็นเวลา 10, 15 และ 20 นาที

ช่องที่ 15 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 16 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 22 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 119 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190, 200, 210 และ 220°ซ ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1.5%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2-4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 190°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 5-8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 200°ซ เป็นเวลา 5, 10, 15 และ 20 นาที

ช่องที่ 9-10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 210°ซ เป็นเวลา 5 และ15 นาที

ช่องที่ 11-13 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 220°ซ เป็นเวลา 5, 10 และ 15 นาที

ช่องที่ 14 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 15 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)

4.2.2.1.2 การนึ่งความดัน

ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^2 เป็นเวลา 0, 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาที เปรียบเทียบกันทั้งในส่วนของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง (A) และเมล็ดถั่วเหลืองบด (B) ดังตารางที่ 8

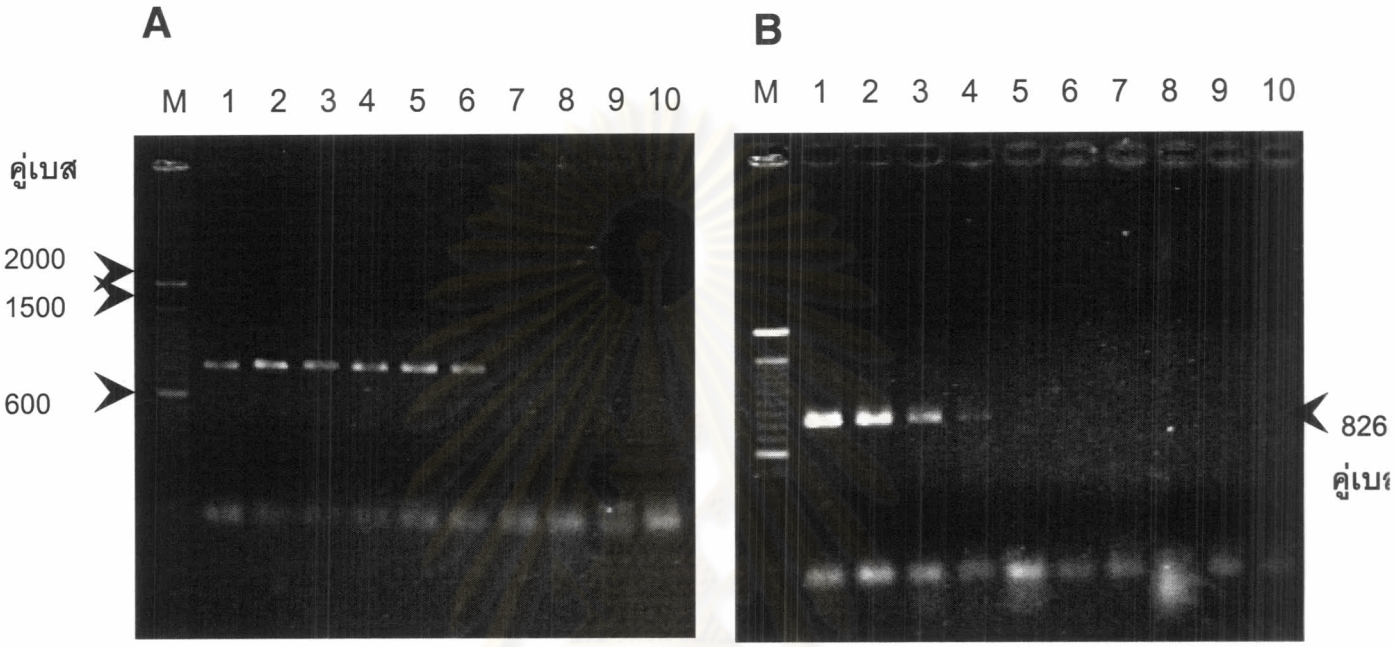
ตารางที่ 8 การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 823 นิวคลีโอไทด์ ของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง (A) และเมล็ดถั่วเหลืองบด (B) ที่ผ่านการนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ในที่เวลา 0, 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาทีตามลำดับ โดยวิธี PCR

	ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง																			
	119 นิวคลีโอไทด์							**327 นิวคลีโอไทด์**							**826 นิวคลีโอไทด์**						
	0	5	10	15	30	60	120	0	5	10	15	30	60	120	0	5	10	15	30	60	120
A	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-
B	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR
- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

จากการทดลองพบว่าในทั้ง 2 กรณี (A และ B) การนึ่งความดันเป็นระยะเวลา 120 นาที ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 119 นิวคลีโอไทด์ และเมื่อพิจารณาการนึ่งความดันในช่วงเวลา 0-60 นาที พบว่าการนึ่งความดันกับดีเอ็นเอบริสุทธิ์ ขนาดของดีเอ็นเอที่ตรวจสอบได้โดยเฉพาะที่ขนาด 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์ อยู่ในระดับระยะเวลาที่สูงกว่าการนึ่งความดันกับเมล็ดถั่วเหลืองโดยตรง โดยจะไม่สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอจากยีน *lectin* ที่มีขนาดสูงกว่า 826 นิวคลีโอไทด์ได้ เมื่อนึ่งความดันเป็นเวลานานกว่า 30 นาทีสำหรับการนึ่งความดันของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ แต่ในขณะที่การนึ่งความดันของเมล็ดถั่วเหลืองระยะเวลาที่ตรวจสอบได้จะลดลงเหลืองเพียง 15 นาทีเท่านั้น ส่วนการตรวจสอบดีเอ็นเอจากยีน *lectin* ที่มีขนาดสูงกว่า 327 นิวคลีโอไทด์ที่ไม่สามารถตรวจสอบได้เมื่อนึ่งความเป็นเวลานานกว่า 60 นาทีสำหรับการนึ่งความดันของ

ดีเอ็นเอบริสุทธิ์ แต่ในขณะที่การนึ่งความดันของเมล็ดถั่วเหลืองระยะเวลาที่ตรวจสอบได้จะลดลงเหลือเพียง 15 นาทีเท่านั้น (รูปที่23-25)



รูปที่ 23 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองในส่วนของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง (A) และเมล็ดถั่วเหลืองบด (B) ที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดันด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1% ใน 1xTAE buffer

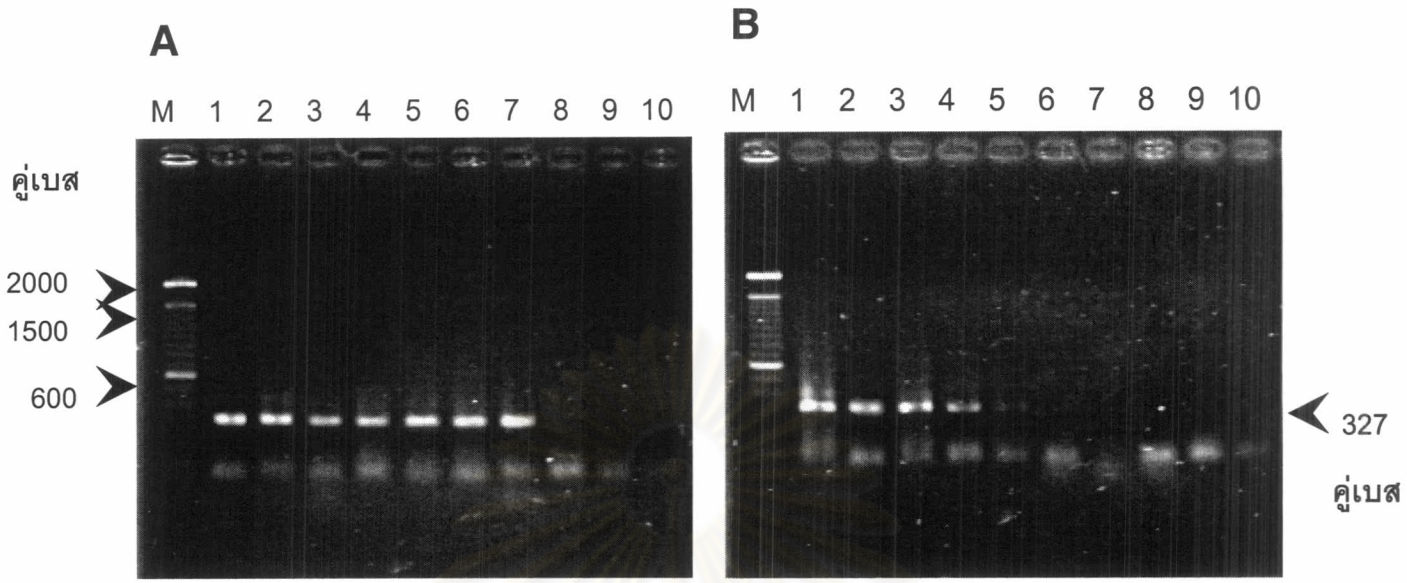
ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2-8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 0, 5, 10, 15, 30, 60 และ 120 นาทีตามลำดับ

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 24 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 327 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองในส่วนของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง (A) และเมล็ดถั่วเหลืองบด (B) ที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1%ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 0 นาที

ช่องที่ 3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 5 นาที

ช่องที่ 4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 10 นาที

ช่องที่ 5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 15 นาที

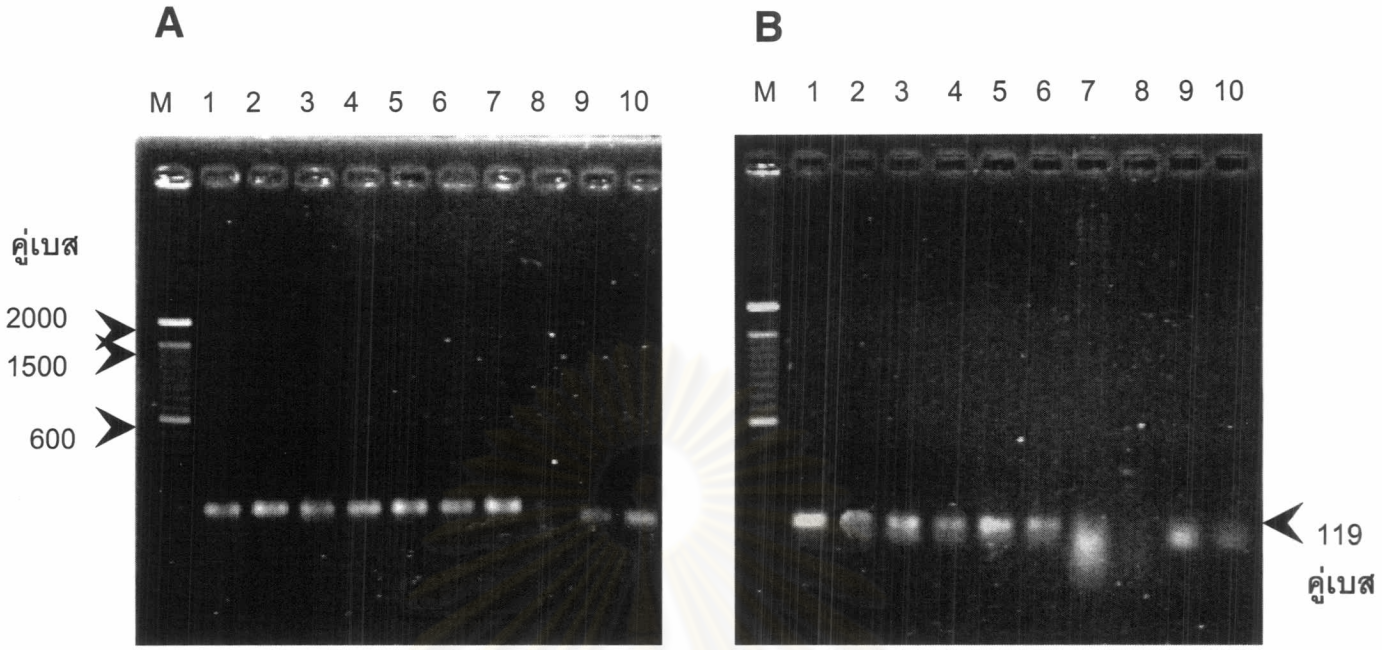
ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 30 นาที

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 60 นาที

ช่องที่ 8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 120 นาที

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 25 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 119 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองในส่วนของดีเอ็นเอบริสุทธิ์ที่สกัดได้จากถั่วเหลือง (A) และเมล็ดถั่วเหลืองบด (B) ที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน ด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1.5% ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 0 นาที

ช่องที่ 3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 5 นาที

ช่องที่ 4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 10 นาที

ช่องที่ 5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 15 นาที

ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 30 นาที

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 60 นาที

ช่องที่ 8 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ผ่านกระบวนการนึ่งความดัน เป็นเวลา 120 นาที

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 10 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)

4.2.2.1.3 การต้มเป็นระยะเวลานาน ในกรณีน้ำนมถั่วเหลือง

4.2.2.1.3.1 การจำลองกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง

เมื่อตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนเป็นดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากเมล็ดถั่วเหลืองที่นำมาแปรรูปเป็นน้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตโดยวิธี PCR

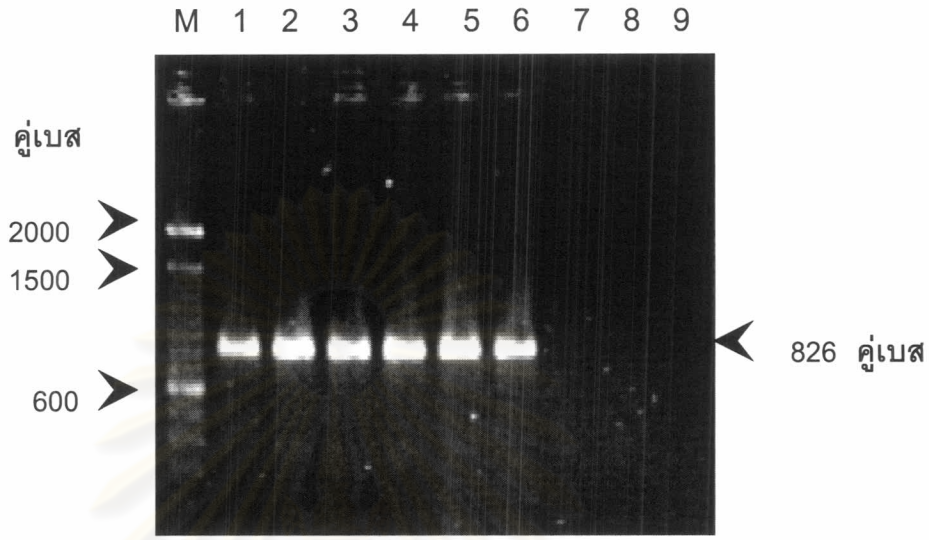
ขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์	ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง (นิวคลีโอไทด์)		
	119	327	826
ขั้นตอนของน้ำที่ได้จากถั่วหลังจากปั่นถั่ว	+	+	+
ขั้นตอนของกากที่ได้จากการกรอง	+	+	+
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที	+	+	+
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 2 ชม.	+	+	+
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 5 ชม.	+	+	-
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 10 ชม.	+	-	-
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 15 ชม.	+	-	-
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 20 ชม.	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

จากการทดลองพบว่าภาวะการแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในขั้นตอนภายหลังจากการอุ่นเป็นเวลาเกินกว่า 2, 5 และ 15 ชั่วโมง ดีเอ็นเอของยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ ตามลำดับ โดยการอุ่นแม้ที่เวลานานถึง 15 ชั่วโมง ยีน

lectin มีขนาดมากกว่า 119 นิวคลีโอไทด์ซึ่งเป็นขนาดที่สามารถตรวจสอบได้ตามวิธีการตรวจสอบของรัฐบาลสวิตเซอร์แลนด์ (รูปที่ 26-28)



รูปที่ 26 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านการจำลองแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1% ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรองเมื่อปั่นถั่วแล้ว

ช่องที่ 3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง

ช่องที่ 4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที

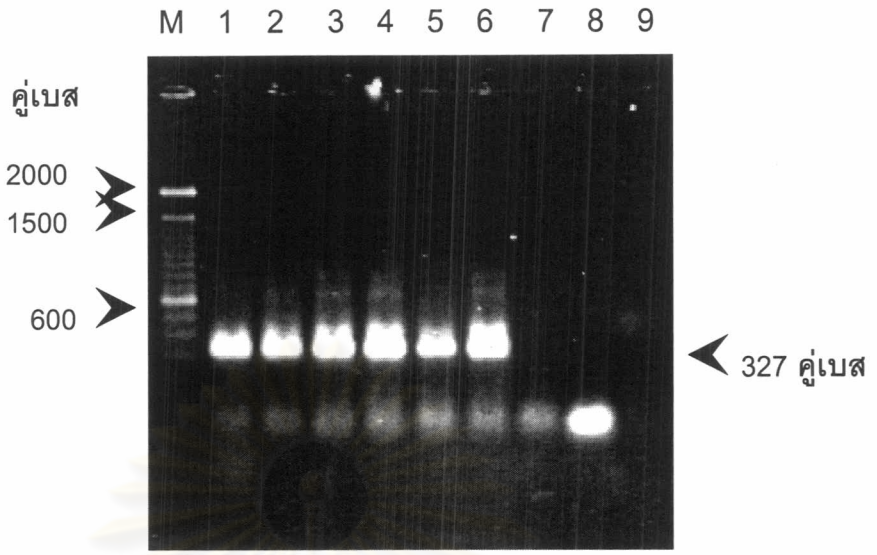
ช่องที่ 5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ช่องที่ 8 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 27 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 327 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านการจำลองแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1% ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรองเมื่อปั่นถั่วแล้ว

ช่องที่ 3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง

ช่องที่ 4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที

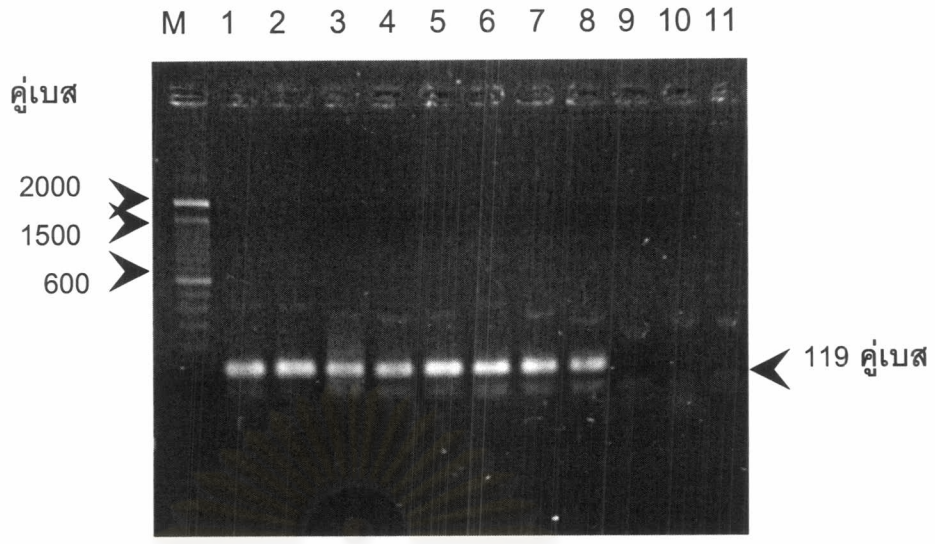
ช่องที่ 5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา10 ชั่วโมง

ช่องที่ 8 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)



รูปที่ 28 ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* 119 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านการจำลองแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนด้วยหลักการ PCR โดยเทคนิคเจลอิเล็กโทรฟอเรซิสบนอะกาโรสเจล 1.5% ใน 1xTAE buffer

ช่อง M ดีเอ็นเอมาตรฐานสำหรับเทียบขนาด (100 นิวคลีโอไทด์ DNA ladder)

ช่องที่ 1 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากโมเลกุลมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบ (positive control)

ช่องที่ 2 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรองเมื่อปั่นถั่วแล้ว

ช่องที่ 3 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง

ช่องที่ 4 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังจากการต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที

ช่องที่ 5 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

ช่องที่ 6 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา 5 ชั่วโมง

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา10 ชั่วโมง

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา15 ชั่วโมง

ช่องที่ 7 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำนมถั่วเหลืองภายหลังการอุ่นเป็นเวลา20 ชั่วโมง

ช่องที่ 8 ผลของการเพิ่มปริมาณโดยปราศจากดีเอ็นเอจากเมล็ดถั่วเหลืองเพื่อการเปรียบเทียบ (negative non-template control)

ช่องที่ 9 ผลของการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอจากน้ำกลั่นปลอดเชื้อ (negative control)

4.2.2.1.3.2 กรรมวิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองในอุตสาหกรรม

ผลการตรวจวิเคราะห์ยีน *lectin* ของถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองในแต่ละขั้นตอนของอุตสาหกรรมเป็นดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการแปรรูปเป็นน้ำนมถั่วเหลืองในอุตสาหกรรมในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตโดยวิธี PCR

ขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์	ผลการตรวจขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง (นิวคลีโอไทด์)		
	119	327	826
ขั้นตอนภายหลังจากการแช่ถั่วเหลือง	+	+	+
ขั้นตอนของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากถั่วภายหลังจากการกรอง	+	+	+
ขั้นตอนของกากถั่วเหลืองที่ได้จากการกรอง	+	+	+
ขั้นตอนก่อนการทำพาสเจอร์ไรซ์	+	+	+
ขั้นตอนหลังการทำพาสเจอร์ไรซ์	+	+	+
ขั้นตอนก่อนการทำโฮโมจีไนซ์	+	+	+
ขั้นตอนหลังการทำโฮโมจีไนซ์	+	+	-
ขั้นตอนหลังจากผ่านขั้นตอนการทำ UHT	+	+	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

\- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามที่ระบุในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

จากการทดลองพบว่าในภาวะการแปรรูปผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง ขั้นตอนการผลิตภายหลังกระบวนการโฮโมจีไนซ์ ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 นิวคลีโอไทด์ และยังพบว่าเมื่อการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองดำเนินไปจนสิ้นสุดกระบวนการ ยังสามารถตรวจสอบยีน *lectin* ที่มีขนาด 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ได้

4.2.2.2 การแปรรูปโดยการหมัก

4.2.2.2.1 ผลิตภัณฑ์ซีอิ้ว

ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ซีอิ้ว พบว่าในภาวะการแปรรูปผลิตภัณฑ์ซีอิ้วนั้นขั้นตอนการผลิตก่อนการหมัก คือถั่วเหลืองภายหลังจากการแช่น้ำข้ามคืน และถั่วเหลืองที่ผ่านการต้มเป็นระยะเวลานาน 3 ชั่วโมง ยังสามารถตรวจสอบขนาดดีเอ็นเอของยีน *lectin* ได้ทั้ง 826, 327 และ 119 นิวคลีโอไทด์ (ตารางที่ 11) แต่เมื่อนำเอาถั่วเหลืองมาทำการหมักเป็นเวลา 1 วันแล้วเก็บเอาน้ำหมักมาตรวจสอบ พบว่าไม่สามารถตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* ได้เลยแม้เพียงขนาดเดียว เมื่อตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* ในน้ำหมักถั่วภายหลังการหมักเป็นเวลา 2 วัน พบว่ายีน *lectin* มีขนาดมากกว่า 826 นิวคลีโอไทด์ แต่เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 3 และ 4 วันตามลำดับ พบว่าขนาดของยีน *lectin* ลดลงต่ำกว่า 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ และเมื่อดำเนินการหมักเป็นเวลา 6 เดือนยังสามารถตรวจพบดีเอ็นเอแม่แบบในขนาด 119 นิวคลีโอไทด์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ซีอิ้วในแต่ละขั้นตอนโดยวิธี PCR

ขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์	ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง (นิวคลีโอไทด์)		
	119	327	826
ถั่วเหลืองภายหลังจากการแช่ข้ามคืน	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการต้ม 3 ชั่วโมง	+	+	+
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 1 วัน	-	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 2 วัน	+	+	+
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 3 วัน	+	+	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 4 วัน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 5 วัน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 6วัน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 7 วัน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 1 เดือน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 2 เดือน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 3 เดือน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 4 เดือน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 5 เดือน	+	-	-
น้ำหมักถั่วภายหลังจากการหมัก 6 เดือน	+	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามระบุไว้ในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามระบุไว้ในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

4.2.2.2.2 ผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว

การตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยว พบว่าในภาวะการแปรรูปนั้นขั้นตอนการผลิตภายหลังการหมักเป็นเวลา 3 และ 4 วัน ยีน *lectin* มีขนาดลดลงต่ำกว่า 826 และ 327 นิวคลีโอไทด์ตามลำดับ (ตารางที่ 12) และเมื่อหมักเป็นเวลา 6 เดือน ยังสามารถตรวจพบยีน *lectin* ขนาด 119 นิวคลีโอไทด์ได้เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ซีอิ้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* 119, 327 และ 826 นิวคลีโอไทด์จากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เต้าเจี้ยวในแต่ละขั้นตอนโดยวิธี PCR

ขั้นตอนในการตรวจวิเคราะห์	ผลการตรวจสอบขนาดของยีน *lectin* ในถั่วเหลือง (นิวคลีโอไทด์)		
	119	327	826
ถั่วเหลืองภายหลังจากการแช่ข้ามคืน	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการต้ม 3 ชั่วโมง	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 1 วัน	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 2 วัน	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 3 วัน	+	+	+
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 4 วัน	+	+	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 5 วัน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 6วัน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 7 วัน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 1 เดือน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 2 เดือน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 3 เดือน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 4 เดือน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 5 เดือน	+	-	-
ถั่วเหลืองภายหลังจากการหมัก 6 เดือน	+	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง สามารถเพิ่มปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามระบุไว้ในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

- หมายถึง ไม่สามารถปริมาณของยีน *lectin* ขนาดตามระบุไว้ในถั่วเหลืองโดยเทคนิค PCR

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย