# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

. การแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต β-Mannanase เพื่อใช้ในอาหารสัตว์และลักษณะบางประการของน้ำหมักของเชื้อที่คัดเลือกได้

(Isolation and Selection of β-Mannanase Producting Bacteria for Feed Addition and Some Characteristics of Selected Culture Broth)

จัดทำโดย


นายภคภพ เศรษฐเกษตร รหัสประจำตัว 44040754

นายพรศักดิ์ ลีลาวานิชกิจ รหัสประจำตัว 44040761


ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... ...../...../.....

(.....)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20390

# การแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต β-Mannanase เพื่อใช้ในอาหารสัตว์และลักษณะบางประการของน้ำหมักของเชื้อที่คัดเลือกได้

# (Isolation and Selection of β-Mannanase Producting Bacteria for Feed Addition and Some Characteristics of Selected Culture Broth)

T096595

นายภคภพ เศรษฐเกษตร รหัสประจำตัว 44040754

นายพรศักดิ์ ลีลาวานิชกิจ รหัสประจำตัว 44040761

ปพ.
ภ1147
2548
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96595
วัน.เดือน.ปี.....

สาขาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต(อุตสาหกรรมเกษตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาย ภคภพ เศรษฐเกษตร และ นาย พรศักดิ์ ลีลาวานิชกิจ. 2547. การแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต β-Mannanase เพื่อใช้ในอาหารสัตว์และลักษณะบางประการของน้ำหมักของเชื้อที่คัดเลือกได้ (Isolation and Selection of β-Mannanase Producting Bacteria for Feed Addition and Some Characteristics of Selected Culture Broth) สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## บทคัดย่อ

กากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งของโปรตีนอาหารสัตว์มี mannan , glucomannan และ galactomannan ที่มีอยู่มากในส่วนเปลือกของถั่วเหลือง สารเหล่านี้สัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถย่อยได้ และเป็นตัวที่ขัดขวางการดูดซึมสารอาหารในสัตว์กระเพาะเดี่ยวซึ่งจะยับยั้งการเจริญเติบโตและลดประสิทธิภาพการแลกเนื้อของอาหารสัตว์ β-mannanase ที่ผลิตเป็นการค้า เช่น Hemicell® จาก Bacillus lentus ถั่วเน่าเป็นอาหารหมักพื้นบ้านของภาคเหนือที่ทำจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ดนำมาหมักโดยมี Bacillus subtilis มีบทบาทสำคัญในการหมัก ซึ่งน่าจะมีแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการสร้าง β-mannanase จึงได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียที่เจริญได้ดีบนกากถั่วเหลืองจากถั่วเน่าได้จำนวน 32 เชื้อ นำมาคัดเลือกโดยใช้อาหารเหลวได้เชื้อที่มีประสิทธิภาพในการย่อยเปลือกถั่วเหลืองจำนวน 17 เชื้อ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์โดยการวิเคราะห์ β-mannanase activity คัดเลือกได้เชื้อรหัส TN-6 สามารถผลิต β-mannanase ได้สูงสุด น้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อนี้มี β-mannanase activity 14.68 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อศึกษาสมบัติของ β-mannanase ในน้ำหมักที่ได้พบว่าจะต้องมี relative activity เกินร้อยละ 80 ขึ้นไป ซึ่งผลของพีเอชต่อ β-mannanase activity ที่ทุกอุณหภูมิ พบว่าที่พีเอช 3.5 จะมีค่า relative activity ที่ต่ำมาก ส่วนพีเอช 6.5 ขึ้นไปจะมีค่า relative activity ลดลง ซึ่งไม่เหมาะกับการทำงานของ β-mannanase ส่วนผลของอุณหภูมิต่อ β-mannanase activity ที่พีเอชต่างๆ พบว่าช่วงพีเอชที่มีผลให้ relative activity เกินร้อยละ 80 คือที่อุณหภูมิ 35° ซ. อยู่ระหว่างพีเอช 4.5 – 7.0 อุณหภูมิ 40-45° ซ จะได้พีเอชที่อยู่ระหว่างพีเอช 4.0 – 6.5 และที่อุณหภูมิที่ 50-60° ซ จะได้พีเอชที่อยู่ระหว่างพีเอช 5.0- 5.5

| ลายมือชื่อนักศึกษา | ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา | วัน เดือน ปี |
|---|---|---|

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

รายงานปัญหาพิเศษ เรื่อง การแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิต β-Mannanase เพื่อใช้ในอาหารสัตว์และลักษณะบางประการของน้ำหมักของเชื้อที่คัดเลือกได้ (Isolation and Selection of β-Mannanase Producting Bacteria for Feed Addition and Some Characteristics of Selected Culture Broth) ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำรับฟังปัญหา และให้คำปรึกษาที่ดีเสมอมา รวมทั้งการตรวจและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ จนทำให้รายงานฉบับนี้สำเร็จสมบรูณ์ได้ จึงขอขอบพระคุณมาไว้ ณ ที่นี้ด้วย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ ดร. วริพัสย์ อารีกุล และ อ. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการ ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่คอยเป็นกำลังใจ ให้ความช่วยเหลือเสมอมา ที่สำคัญขอขอบคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้การสนับนุน และเป็นกำลังใจให้มาโดยตลอด

ภคภพ เศรษฐเกษตร และ พรศักดิ์ ลีลาวานิชกิจ

15 มีนาคม 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | ก |
| กิตติกรรมประกาศ | ข |
| สารบัญ | ค |
| สารบัญรูปภาพ | จ |
| สารบัญภาคผนวก | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| - วัตถุประสงค์ | 1 |
| บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ | 2 |
| 2.1 β-Mannan และอนุพันธ์ในกากเมล็ดพืชน้ำมัน | 2 |
| 2.2 β-Mannan และอนุพันธ์ เป็นตัวขัดขวางสารอาหาร | 2 |
| 2.3 β-Mannanase ที่ผลิตเป็นการค้า | 2 |
| 2.4 การเรียกชื่อเอนไซม์ | 3 |
| 2.5 ลักษณะของอาหารสัตว์สามารถแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆ ได้ดังนี้ | 3 |
| 2.6 ความหมายของระบบทางเดินอาหาร | 5 |
| 2.7 ประเภทของระบบทางเดินอาหารสัตว์ | 5 |
| 2.8 ผลของพีเอช ต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ | 6 |
| 2.9 ผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ | 6 |
| 2.10 ถั่วเน่า | 6 |
| บทที่ 3 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง | 8 |
| - วัตถุดิบ | 8 |
| - อุปกรณ์ | 8 |
| - สารเคมี | 8 |
| - วิธีการทดลอง | 8 |
| 3.1 การแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่า | 8 |
| 3.2 ทำการคัดเลือกเชื้อที่ที่เจริญเติบโตและทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวซ์ ในอาหารเปลือกถั่วเหลือง | 9 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| 3.3 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้ | 11 |
| 3.4 ศึกษาการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้ | 12 |
| 3.5 ศึกษาผลของอุณหภูมิและ พีเอช ต่อเอนไซม์ β-mannanase activity | 13 |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์ผลการทดลอง | 14 |
| 4.1 การแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่า | 14 |
| 4.2 ทำการคัดเลือกเชื้อที่ที่เจริญเติบโตและทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเปลือกถั่วเหลือง | 14 |
| 4.3 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้ | 16 |
| 4.4 ศึกษาการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้ | 16 |
| 4.5 ศึกษาผลของอุณหภูมิและพีเอช ต่อเอนไซม์ β-mannanase activity | 17 |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ | 21 |
| - วิจารณ์ผลการทดลอง | 21 |
| เอกสารอ้างอิง | 22 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ


| | หน้า |
|---|---|
| ภาพที่ 3.1.1 แสดงวิธีการแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่า | 9 |
| ภาพที่ 3.2.1แสดงวิธีการคัดเลือกเชื้อที่ทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเปลือกถั่วเหลือง | 10-11 |
| ภาพที่ 3.3.1 แสดงการคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิต β-mannanase | 11-12 |
| ภาพที่ 3.4.1 แสดงความสำคัญของระยะเวลากับการผลิต β-mannanase และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อทีคัดเลือกได้ | 12-13 |
| ภาพที่ 3.5.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ | 13 |
| ภาพที่ 4.1.1 แสดงเชื้อที่ทำการแยกเชื้อด้วยการ spread plate technic บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง | 14 |
| ภาพที่ 4.2.1 การทดสอบ Benadict's reagent ที่ไม่เกิดตะกอนสีแดงอิฐ | 15 |
| ภาพที่ 4.2.2 การทดสอบ Benadict's reagent ที่เกิดตะกอนสีแดงอิฐ | 15 |
| ภาพที่ 4.3.1 แสดงความสามารถในการผลิตเอนไซม์จากเชื้อ 17 เชื้อ | 16 |
| ภาพที่ 4.4.1 แสดงการผลิต β-mannanase ในน้ำหมักของเชื้อ TN-6 | 17 |
| ภาพที่ 4.5.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 35 ° ซ | 18 |
| ภาพที่ 4.5.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 40 ° ซ | 18 |
| ภาพที่ 4.5.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 45 ° ซ | 19 |
| ภาพที่ 4.5.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 50 ° ซ | 19 |
| ภาพที่ 4.5.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 55 ° ซ | 20 |
| ภาพที่ 4.5.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 60 ° ซ | 20 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาคผนวก


| | หน้า |
|---|---|
| วิธีเตรียมอาหารเปลือกถั่วเหลืองที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ | 23 |
| วิธีเตรียม peptone water | 23 |
| วิธีเตรียมการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi- Nelson Method | 23 |
| วิธีเตรียม Benadict's reagent | 24 |
| วิธีเตรียม Mcllvaine buffer | 24 |
| การเทียบมาตราฐานของน้ำตาล mannose | 24 |
| ข้อมูลผลการทดลอง | 26 |
| วิธีการคำนวณ β-mannanase activity | 34 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

ในปัจจุบันมีประชากรของโลกมีจำนวนเพิ่มขึ้น จึงมีความต้องการบริโภคอาหารจากแหล่งต่างๆ เพื่อนำมาบริโภคให้พอเพียงกับความต้องการของประชากร ซึ่งการทำฟาร์มเลี้ยงสัตว์ก็เป็นส่วนหนึ่งของแหล่งอาหาร ในการเลี้ยงสัตว์ส่วนใหญ่ก็มีการให้อาหารสำเร็จรูปแก่สัตว์เพื่อลดต้นทุนและเวลาในการเตรียมอาหาร ทำให้มีการผลิตเนื้อสัตว์ที่มีผลผลิตต่อหน่วยอาหารสัตว์สูงขึ้นในเวลาที่ลดลง เพื่อให้มีความเพียงพอต่อผู้บริโภค ดังนั้นจึงมีการนำเอนไซม์ต่างๆ เช่น อะไมเลส เซลลูเลส และ แมนแนนเนส เป็นต้น เข้ามาใช้ในอาหารสัตว์เพื่อช่วยในการย่อยอาหารของสัตว์ ทำให้สัตว์ได้สารอาหารที่ครบถ้วน

ในอาหารสัตว์สำเร็จรูปมีส่วนผสมที่แตกต่างกัน ซึ่งส่วนผสมมี ข้าวโพด มันสำปะหลัง กากถั่วเหลือง รำสกัด ปลาป่น แคลเซียมฟอสเฟต ไตรแคลเซียม วิตามิน ยาปฏิชีวนะ และเอนไซม์ช่วยย่อย ในส่วนผสมเหล่านี้ก็มีส่วนประกอบอาหารที่เอนไซม์ของสัตว์ไม่สามารถย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น เซลลูโลส ไซแลน แมนแนน ดังนั้นจึงมีการนำเอนไซม์ผสมในอาหารสัตว์ เพื่อช่วยในการย่อยอาหารของสัตว์ ทำให้อัตราส่วนการแลกเนื้อต่ออาหารสัตว์เพิ่มขึ้น ในกรณีที่ใช้พืชตระกูลถั่วเป็นส่วนประกอบของอาหารสัตว์ พบว่าในผนังเซลล์พืชตระกูลถั่วมี β-mannan และอนุพันธุ์เป็นส่วนประกอบปริมาณมาก ซึ่งเอนไซม์สัตว์ไม่สามารถย่อยมี β-mannan และอนุพันธุ์อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งเป็นต้นเหตุของการยับยั้งการดูดซึมของสารอาหารอื่น ทำให้การเจริญของสัตว์ช้าลงและยังทำให้การสร้างฮอร์โมน Insulin ลดน้อยลง เป็นผลให้การดูดซึมในลำไส้ การใช้กลูโคส และกรดอะมิโนลดลง ซึ่งก็เป็นผลมาจาก β-mannan ที่มีอยู่ในส่วนประกอบของอาหารสัตว์ ดังนั้นการใช้เอนไซม์ β-mannanase เติมลงในอาหารสัตว์ ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการแลกเนื้อของอาหารสัตว์

<u>วัตถุประสงค์</u>

1. เพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียจากแหล่งต่าง ๆ แล้วคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ β-mannanase
2. เพื่อศึกษาสมบัติบางประการของ β-mannanase ในน้ำหมักที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ ที่คัดเลือกได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2

# วารสารปริทัศน์

ปัจจุบันประชากรของโลกมีจำนวนมากขึ้น ในขณะที่ทรัพยากรธรรมชาติที่ใช้เป็นอาหารลดจำนวนลงหรือเพิ่มขึ้นไม่ทันต่อการบริโภค โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารโปรตีนจากสัตว์และผลิตภัณฑ์อื่นๆจากสัตว์ เช่น นมและไข่ จึงได้มีการนำเอนไซม์เข้ามาเป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์ โดยมีจุดประสงค์ที่จะให้สัตว์เจริญเติบโตเร็วที่สุด ให้ผลผลิตสูงที่สุดและเสียค่าต้นทุนในการผลิตต่ำสุดด้วย จึงมีการผลิต β-mannanase โดยแบคทีเรีย Bacilus lentus จากบริษัท ChemGen Corp. ที่มีชื่อทางการค้าว่า Hemicell® ที่ใช้ในการผสมในอาหารสัตว์ เพื่อใช้ในการย่อยสลายวัตถุดิบในอาหารสัตว์ที่สัตว์ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

## 2.1 β-mannan และอนุพันธ์ในกากเมล็ดพืชน้ำมัน

β-mannan และอนุพันธ์ (β-Galactomannan และ β-Glucomannan) เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ในพืชตระกูลถั่ว ประกอบด้วย β-mannan และอนุพันธ์ที่มีจำนวนต่างกัน เมล็ดงา และเมล็ดถั่วมี β-mannan สูง ดังนั้นในอาหารสัตว์ที่มีโปรตีนพืชเป็นแหล่งโปรตีนหลักซึ่งมี β-mannan ปริมาณมาก ซึ่งการใช้ β-mannanase เติมลงในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว เพื่อช่วยย่อย β-mannan จะทำให้สัตว์ได้ประโยชน์จากอาหารสัตว์สูงสุด

## 2.2 β-mannan และอนุพันธ์ เป็นปัจจัยต่อต้านโภชนศาสตร์ในอาหารสัตว์

β-Galactomannan ในพืชตระกูลถั่ว เป็นตัวที่ขัดขวางการดูดซึมของสารอาหารอย่างแรงสำหรับสัตว์ที่มีกระเพาะเดี่ยว ถ้ามี β-Galactomannanร้อยละ 2-4 ในอาหารสัตว์ก็จะไปยับยั้งการเจริญเติบโตและลดประสิทธิภาพของอาหารสัตว์ในไก่เนื้อ ถ้ามี β-mannanase ในอาหารสัตว์จะสามารถไปยับยั้งผลกระทบที่เกิดจาก β-Galactomannan ซึ่งมีการศึกษาเกี่ยวกับ β-Galactomannan เป็นตัวยับยั้งที่แรงของ glycemic response และของการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินในการใช้สุกรเป็นตัวศึกษาการห้ามการหลั่งฮอร์โมนอินซูลินทำให้สูญเสียการดูดซึมในลำไส้ ประโยชน์จากกลูโคส และกรดอะมิโนในสัตว์กระเพาะเดี่ยว ทั้งหมดเป็นผลมาจาก β-mannan ที่ทำให้การเจริญเติบโตช้าและลดประสิทธิภาพในอาหารสัตว์ลง

## 2.3 β-mannanase ที่ผลิตเป็นการค้า

นักวิทยาศาสตร์ของบริษัท ChemGen Corp. คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ Bacillus lentus เป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพในการผลิต β-mannanase ซึ่งสามารถย่อยสลาย β-mannan ได้อย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีประสิทธิภาพ เป็นผลให้ปรับปรุงคุณภาพอาหารสัตว์ให้สามารถย่อยสลาย ถูกนำมาใช้เป็นพลังงานและใช้ในเมทาบอลิซึมของสัตว์ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งไฟเบอร์ในอาหารสัตว์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วย β-mannan ที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ต่อกันด้วยยูนิตซ้ำๆ กันของ mannose และในธรรมชาติจะพบบ่อยๆ ว่ามี galactose และ/หรือ glucose ต่อเชื่อมอยู่กับ β-mannan ที่เป็นสายหลัก

2.4 <u>การเรียกชื่อเอนไซม์</u>

β-mannanase เป็นเอนไซม์ที่มีทั้งที่เป็น endo- β-mannanase และ exo-β-mannanase ซึ่งการจำแนก β-mannanase ตามลักษณะของการเร่งปฏิกิริยา ได้ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม Hydrolases ที่มีเลข E.C. คือ E.C.3.-.-.- ความหมายของเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่ม Hydrolases เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะโคเวเลนต์ในสารประกอบใด ๆ โดยมีโมเลกุลของน้ำเข้ามามีส่วนร่วมและมีการเติมอะตอมที่เป็นองค์ประกอบของน้ำเข้ากับพันธะที่ถูกย่อยสลาย

endo- β-mannanase มีชื่อตามระบบตัวเลข E.C.3.2.1.78 มีปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ 1,4-β-D-mannosidic linkagesใน mannans, galactomannans, glucomannans, and galactoglucomannans สับสเตรทแบบสุ่ม

- Other name(s): endo-1,4-β-mannanase; endo-β-1,4-mannase; β-mannanase B; β-1, 4-mannan 4-mannanohydrolase; endo-β-mannanase; β-D-mannanase
- Common name: mannan endo-1,4-β-mannosidase
- Systematic name: 1,4-β-D-mannan mannanohydrolase

exo- β-mannanase มีชื่อตามระบบตัวเลข EC 3.2.1.100 มีปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ 1,4-β-D-mannosidic linkages ใน 1,4-β-D-mannans จากปลาย non-reducing

- Other name(s): 1,4-β-D-mannan mannobiohydrolase; exo-β-mannanase; exo-1,4-β-mannobiohydrolase
- Common name: mannan 1,4-mannobiosidase
- Systematic name: 1,4-β -D-mannan mannobiohydrolase

2.5 <u>ลักษณะของอาหารสัตว์สามารถแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆได้ดังนี้</u>

2.5.1 อาหารป่น (mash feed) เป็นชนิดของอาหารที่มีขั้นตอนการผลิตง่ายที่สุดและสามารถเตรียมได้เองโดยผู้ใช้ ทั้งนี้อาหารป่นเป็นอาหารที่ได้จากการนำวัตถุดิบอาหารสัตว์แต่ละชนิดที่ผ่านการบดละเอียดดีแล้วมาผสมให้เข้ากัน และอาจจะมีการเพิ่มเติมวัตถุพวกยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ไวตามิน แร่ชาติ และกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) หรือสารการหืน (antioxidant) ลงไปซึ่งเมื่อผสมเสร็จแล้วสามารถนำไปใช้เลี้ยงสัตว์ได้ทันทีอาจจะทั้งในสภาพอาหารป่นแห้ง (dry mash) หรืออาหารป่นเปียก (wet mash) ก็ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2 อาหารข้นหรือหัวอาหาร (concentrate) จัดเป็นอาหารที่มีส่วนผสมประกอบด้วยวัตถุดิบที่เป็นแหล่งของโปรตีนทั้งจากพืชและสัตว์ ไวตามิน แร่ธาตุ และกลุ่มสารเสริมต่างๆ โดยผู้ใช้จะต้องนำวัตถุดิบชนิดต่างๆ ที่เป็นแหล่งของพลังงานซึ่งสามารถจัดหาได้ในแต่ละท้องที่ ซึ่งมีราคาไม่สูงนัดลกและหาได้ง่าย ส่วนมากได้แก่ ข้าวโพด ปลายข้าว รำละเอียด ข้าวฟ่าง หรือมันเส้น เป็นต้น ทั้งนี้เมื่อผสมกับอาหารข้นตามสัดส่วนที่กำหนดก็จะได้เป็นอาหารที่มีสมดุลย์ของโภชนะต่างๆ ครบตามความต้องการของสัตว์แต่ละชนิด และแต่ละช่วงของการเลี้ยง

2.5.3 อาหารอัดเม็ด (Pellet feeds) ได้แก่ อาหารที่ทำการผสมแล้วแต่ยังอยู่ในลักษณะอาหารผงแล้วผ่านขั้นตอนอัดเม็ด (pelleting process) โดยอาศัยความร้อนชื้นในขณะผ่านเครื่องอัดเม็ดอาหารอัดเม็ดมีขนาดแตกต่างกันตามระยะการเลี้ยงได้แก่

2.5.3.1 อาหารอัดเม็ดที่ผ่านการตีให้แตก (crumbles) โดยการนำอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดแล้วมาผ่านเครื่องบดที่ตีให้เม็ดอาหารมีลักษณะเล็กลงแต่ไม่เป็นผง อาหารดังกล่าวนี้เหมาะสำหรับลูกสัตว์ปีกในช่วงแรกของการเลี้ยง (1วัน-3สัปดาห์)

2.5.3.2 อาหารอัดเม็ด (pellets) เป็นอาหารบดละเอียดผ่านกระบวนการอัดเม็ด โดยขนาดเม็ดอาหารมีความแตกต่างกันขึ้นกับชนิดของสัตว์ สำหรับสัตว์ปีกโดยทั่วไปขนาดเม็ดอาหารโดยเฉลี่ยมี ลักษณะกลมยาวขนาด 3×5 มิลลิเมตร และ 3×10 มิลลิเมตร อาหารชนิดนี้เหมาะสำหรับไก่กระทงระยะตั้งแต่ 3 สัปดาห์ เป็นต้นไป และอาหารไก่ไข่

อาหารที่ผ่านการอัดเม็ดจะมีผลดีในด้านการเพิ่มความหนาแน่น (density) ของเนื้ออาหารทำให้สัตว์ได้รับสารอาหารมากขึ้นในระยะเวลาและประมาณที่เท่ากันเมื่อเทียบกับอาหารชนิดผง ทำให้ไก่กินอาหารได้มากขึ้น ทำให้อาหารย่อยได้ง่ายขึ้น และทำให้ไวตามินที่ละลายในไขมันถูกทำลายช้าลง ส่งผลรวมทำให้ไก่มีประสิทธิภาพในการใช้อาหารดีขึ้น และลดการสูงเสียขณะสัตว์กินแต่มีข้อเสียบางประการได้แก่ ต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายในการอัดเม็ด มีแนวโน้มทำให้ไก่ต้องการน้ำมากขึ้นและทำให้ไก่จิกกันเองมากขึ้นด้วย

2.5.4 พรีมิกซ์ (premixed) เป็นส่วนผสมของไวตามิน แร่ธาตุ และอาจจะมีการเพิ่มสารเสริมต่างๆ ลงไปด้วย หลังจากนั้นจึงนำมาผสมกับสานเจือจาง เช่น แป้ง รำ ข้าวโพด ที่ผ่านการบดละเอียดแล้วและทำการผสมให้เข้ากันได้ดี ทั้งนี้เพื่อช่วยกระจายให้ส่วยผสมของพรีมิกซ์สามารถผลิตเข้ากันได้ดีกับส่วนผลิตของอาหารทั้งหมด นิยมนำมาใช้เป็นส่วนผสมในสูตรอาหารระดับที่แตกต่างกันตามชนิดของสัตว์และตามแต่ระยะการเลี้ยง โดยทั่วไปและจะผสมลงในอัตราประมาณ 0.25-0.5 เปอร์เซ็นต์ในสูตร พรีมิกซ์ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันอาจจะเป็นชนิดที่ผสมรวมกันระหว่างไวตามินและแร่ธาตุหรืออาจจะแยกเป็นชนิด vitamin premix หรือ mineral premix ต่างหากก็ได้

2.5.5 วัตถุแต่งเติม (non-nutrient feed additive) หรือเรียกว่า feed additive วัตถุดิบกลุ่มนี้ได้แก่สารเคมี ยา (drugs) ฮอร์โมน (hormone) สารกันหืน สารปรับสภาพกรด-ด่าง (acidifier) สารกันเชื้อรา (antimold agents) เป็นต้น สารดังกล่าวเหล่านี้ไม่ได้ให้สารอาหารใดแก่สัตว์ แต่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนช่วยให้สัตว์นำสารอาหารที่เป็นองค์ประกอบของวัตถุดิบต่างๆ มาใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น และทำให้สัตว์มีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น และมีความต้านทานโรคสูงขึ้นด้วย

2.6 ความหมายของระบบทางเดินอาหาร

หมายถึง ส่วนของร่างกายที่อาหารเริ่มผ่านเข้า โดยเริ่มต้นจากปาก ไปจนกระทั่งอาหารออกนอกร่างกายสัตว์ทางทวารหนัก ลักษณะของทางเดินอาหารจะเป็นท่อยาว บางตอนก็อาจจะเปลี่ยนแปลงไปให้เหมาะสมกับหน้าที่ต่างๆ เช่น ขยายใหญ่เป็นกระเพาะ บางตอนก็มีท่อเปิดของน้ำย่อยที่มาจากแหล่งต่างๆ เช่น น้ำย่อยจากตับอ่อน ภายในทางเดินอาหารบุด้วยเยื่อหุ้ม เรียกว่า mucous membrane เพื่อป้องกันทางเดินอาหารถูกย่อยด้วยน้ำย่อยของตัวเอง

2.7 ประเภทของระบบทางเดินอาหารสัตว์ อาจแตกต่างกันในบางส่วนเช่น กระเพาะ

2.7.1 กระเพาะเดี่ยว (simple or monogastric stomach) กระเพาะมีลักษณะเป็นถุงเดียวสัตว์ที่มีกระเพาะชนิดนี้ เรียกว่า สัตว์กระเพาะเดี่ยว ได้แก่ สุกร สุนัข เป็นต้น ส่วนสัตว์ปีก ม้า กระต่าย อาจจัดเป็นสัตว์กระเพาะเดี่ยวได้ แต่ก็ยังมีทางเดินอาหารบางตอนแตกต่างกันออกไปบ้าง เช่น สัตว์ปีกกระเพาะพัก ม้าและกระต่ายมีไส้ตันและลำไส้ใหญ่ ซึ่งค่อยข้างใหญ่ มีจุลินทรีย์ช่วยย่อยอาหารเยื่อใยจะสังเคราะห์วิตามินได้เช่นเดียวกับกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง แต่ประสิทธิภาพด้อยกว่าโดยเฉพาะอย่างยิ่งในม้า เพราะการย่อยในตำแหน่งดังกล่าวอยู่เลยบริเวณการดูดซึมไปแล้ว ทำให้โภชนะถูกดูดซึมได้ไม่เต็มที่ สำหรับกระต่ายยังมีพฤติกรรมในการกินมูลของตัวเอง จึงช่วยให้ได้รับโปรตีนจากจุลินทรีย์และวิตามินที่สังเคราะห์ในไส้ตันนี้เพิ่มขึ้น

2.7.2 กระเพาะประกอบ หรือกระเพาะรวม (compound stomach) เป็นกระเพาะที่แบ่งออกหลายถุง หลายส่วน สัตว์ที่มีกระเพาะนี้ ได้แก่ สัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น โค กระบือ แพะ แกะ เป็นต้น

กระเพาะอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง แบ่งออกเป็น 4 ส่วน 3 ส่วนแรกเป็นหลอดอาหารที่เปลี่ยนแปลงไป กระเพาะส่วนแรกเรียกว่า รูเมน (rumen) หรือมักเรียกกันว่า ผ้าขี้ริ้ว มีขนาดใหญ่กว่ากระเพาะส่วนอื่นๆ เป็นส่วนที่เก็บอาหารทั้งหมดของสัตว์ที่กลืนลงไป บางคนเรียกว่ากระเพาะหมัก เมื่อสัตว์กินอาหารจนเต็มที่แล้วมันจะสำรอกอาหารที่เก็บเอาไว้ในกระเพาะนี้ขึ้นมา เคี้ยวใหม่อย่างช้าๆ ซึ่งเรียกกันว่าเคี้ยวเอื้อง เมื่อเคี้ยวเอื้องแล้วจะกลืนกลับลงไป อาหารจะอยู่ภายในกระเพาะนี้เป็นเวลาหลายวันอาหารจึงถูกหมักและมีการคลุกเคล้าอยู่ภายในกระเพาะโดยการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อภายในกระเพาะอาหาร อาหารประเภทโปรตีน ไขมัน และเซลลูโลสจะถูกจุลินทรีย์พวกโปรโตซัว แบคทีเรีย ที่อาศัยอยู่ในกระเพาะส่วนนี้ย่อย และคลุกเคล้าไปกับอาหารด้วย กรดไขมันชนิดที่ถูกย่อยได้ง่าย จะถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบหมุนเวียนเลือด เพื่อใช้เป็นแหล่งให้พลังงาน หรือส่งไปผสมในน้ำนม สำหรับอาหารที่มีไนโตเจน เช่น พวกโปรตีน หรือพวกยูเรีย จะถูกจุลินท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีย์เปลี่ยนเป็นกรดอะมิโน จากนั้นอาหารและจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระเพาะส่วนนี้จะถูกบีบส่งไปยังกระเพาะส่วนเรติคิวลัม (reticulum) หรือที่เรียกกันว่ากระเพาะรังผึ้งไปสู่กระเพาะโอมาซัม (omasum) หรือที่เรียกกันว่ากระเพาะสิบกลีบ ซึ่งจะบดอาหารผสมรวมกันแล้วจึงส่งไปยังกระเพาะจริง (abomasum) เข้าสู่ลำไส้เล็ก อาหารจะถูกย่อยอีกครั้งโดยน้ำย่อยในทางเดินอาหารส่วนนี้เอง

2.8 ผลของพีเอชต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ผลของพีเอชต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ หมายถึง ผลของพีเอชที่มีต่อการแตกไอออน (ionization) ของ prototropic group ที่อยู่บริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ ที่มีผลให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติซึ่งจะมีผลไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับซับสเตรต หรือการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ พีเอช ยังไปมีผลต่อการเกิด ES การแตกไอออนของซับสเตรต โคแฟกเตอร์ ซึ่งจะนำไปสู่การจับกับเอนไซม์ที่เปลี่ยนไปด้วย บางกรณี พีเอช อาจมีผลให้ผลผลิตต่ำ เนื่องจากการแตกไอออนของผลิต ดังนั้นในปฏิกิริยาต้องควบคุม พีเอช ให้เหมาะสมสูงสุดที่ไม่ให้แอกทิวิตีถูกยับยั้งไปไม่ว่าจะด้วยวิถีทางใด

2.9 ผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ปฏิกิริยาเคมีส่วนใหญ่จะให้ความเร็วปฏิกิริยาสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นการเพิ่มอุณหภูมิจะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ที่โมเลกุลของสารปฏิกิริยา แล้วมีผลให้เกิดการชนกันได้มากขึ้นต่อหน่วยเวลา สำหรับปฏิกิริยาของเอนไซม์ก็เช่นเดียวกัน เนื่องจากเอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนและแอกทิวิตีในการเร่งปฏิกิริยาจะเกิดเนื่องจากโครงสร้างระดับตติยภูมิ (teriary structure) เรียงตัวอย่างมีระเบียบในทิศทางที่จะต้องจับกับซับสเตรทที่บริเวณจับและบริเวณเร่งปฏิกิริยาเนื่องจากโครงสร้างของเอนไซม์ระดับตติยภูมินี้มีพันธะแรงอ่อนที่ไม่ใช่พันธะโควาเลนต์จำนวนมาก ด้วยเหตุนี้โมเลกุลของเอนไซม์มีโครงสร้างที่ละเอียดอ่อนมาก ถ้าโมเลกุลของสารปฏิกิริยามีพลังงานมากเกินไป โครงสร้างทุติยภูมิจะเสียหาย (disrupt) มีผลให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติและสูญเสียแอกทิวิตีไป

2.10 ถั่วเน่า

ถั่วเน่าเป็นอาหารหมักชนิดหนึ่งที่เตรียมจากถั่วเหลืองและนิยมบริโภคกันในภาคเหนือของประเทศไทย นิยมใช้เครื่องปรุงรสแทนกะปิ โดยส่วนใหญ่มักใช้เติมลงไปในซุปผักหรืออาจใช้บริโภคโดยตรง เป็นการหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อผสมตามธรรมชาติ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่พบได้แก่ Bacillus subtilis, Bacillus licheniformis, Bacillus thermocatenulatus

ถั่วเน่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายนัตโต (natto) ของชาวญี่ปุ่น ซึ่งเป็นอาหารหมักจากถั่วเหลือง โดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ คือ Bacillus subtilis var.natto ทำการหมักจนมีเมือกเกิดขึ้น ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมือกนี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงลักษณะของนัตโตถ้าเมือกยิ่งเหนียวก็จะเป็นนัตโตที่ดีใช้รับประทานกับข้าว หรือนำไปทำซุป อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าสามารถใช้เชื้อบริสุทธิ์ Bacillus subtilis ในการหมักถั่วเน่า สำหรับขั้นตอนในการทำถั่วหมักมีดังนี้ เริ่มต้นด้วยการนำถั่วเหลืองที่ล้างแล้ว มาผ่านการต้มเป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง จนกระทั้งเนื้อของถั่วเหลืองนุ่มและสุขทั่วทั้งหมด จากนั้นจึงถ่ายน้ำทิ้งออกไป แล้วถ่ายเชื้อ B. subtilis ลงไปทำการหมักที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซสเซียส เป็นเวลา 3-4 วัน จะเกิดเป็นถั่วเน่าที่มีลักษณะเหนียวเป็นเมือก ซึ่งเป็นสารไม่มีสีและมีกลิ่นฉุนของแอมโมเนีย ถั่วเน่าที่ได้นี้จะมีลักษณะเหมือนนัตโตตรงลักษณะของผลิตภัณฑ์ และไม่มีกลิ่นของถั่ว รวมทั้งสีของถั่วเหลืองจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาลอ่อน เป็นสีน้ำตาลออกเทา แต่จะมีลักษณะแตกต่างกันกับนัตโตตรงที่ถั่วเน่านิยมนำมาบด แล้วทำให้มีลักษณะคล้ายกะปิ พร้อมทั้งเติมเกลือและสารปรุงรสอื่น ๆ เช่น กระเทียม หอม พริกไทย เป็นต้น แล้วจึงนำไปห่อด้วยใบตอง และทำให้สุกอีกครั้งหนึ่งก่อนนำไปบริโภค การหมักถั่วเน่าตามที่กล่าวมานี้ เป็นการหมักโดยอาศัยเชื้อบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตาม การหมักตามพื้นบ้านจะแตกต่างจากที่กล่าวมา โดยหลังจากที่ถั่วเหลืองผ่านการนึ่งแล้วจะนำมาบรรจุใส่ตะกร้าไม้ไผ่ ซึ่งบุภายในด้วยใบตอง และปิดทับผิวหน้าอีกชั้นด้วยใบตอง จากนั้นจึงปล่อยให้เกิดการหมักตามธรรมชาติ โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียที่อยู่แถบนั้น (ตามปกติแล้วในห้องหรือบริเวณที่ใช้บ่มในระหว่างการหมัก มักจะมีเชื้อแบคทีเรียอยู่ในบรรยากาศบริเวณนั้นเป็นจำนวนมากอยู่แล้ว) ถั่วเน่าที่ได้ก็จะมีลักษณะเดียวกัน แต่การหมักตามพื้นบ้านอาจเกิดปัญหาเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ ที่ไม่ต้องการปนเปื้อนลงไป

จากที่กล่าวมาว่าถั่วเน่าที่ได้นิยมนำมาบด แล้วทำเป็น paste แต่ในการเก็บรักษาจะต้องนำถั่วเน่านั้นมาทำให้กลมคล้ายลูกบอล ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร แล้วจึงนำไปกดให้เป็นแผ่นบาง ๆ จึงนำไปตากแดดให้แห้ง ซึ่งจะทำให้สามารถเก็บถั่วเน่าไว้ได้นานเป็นเวลาหลายเดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3

## วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

<u>วัตถุดิบ</u>

เปลือกถั่วเหลืองจากโรงงาน Lactasoy คลอง 6 จังหวัดปทุมธานี

ถั่วเน่าจากจังหวัดเชียงราย

<u>อุปกรณ์</u>

1. plate
2. ขวดรูปกรวย 250 มิลลิลิตร
3. หลอดทดลอง 16×150 มิลลิเมตร
4. หลอดทดลอง 18×180 มิลลิเมตร
5. ปิเปต 10 มิลลิลิตร , 1 มิลลิลิตร
6. ตะเกียงแอลกอฮอล์
7. centifuge
8. Volume flask 500มิลลิลิตร, 100มิลลิลิตร
9. แท่งแก้ว
10. สำลี
11. Foggy
12. Loop

<u>สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Beef extract
2. Yeast extract
3. peptone
4. agar
5. $KH_2PO_4$
6. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$
7. Sodium sulfate
8. Locust bean gum
9. Potassium sodium tartrate tetrahydrate
10. Sodium carbonate
11. Sodium bicarbonate
12. Copper sulfate heptahydrate
13. Ammonium molybdate
14. Conc. Hydrochloric acid
15. sodium hydrogen arsenate

<u>วิธีการทดลอง</u>

3.1 <u>การแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่า</u>

3.1.1 ทำการชั่งตัวอย่างถั่วเน่าใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ 25 กรัม เท peptone water สำหรับเจือจาง 225 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 นำไปตีป่น ใช้เครื่อง stomacher หรือใช้มือบีบถุงเพื่อขยี้ให้อาหารแตกละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน

3.1.3 ทำการเจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ $10^{-6}$ โดยทำให้เจือจางลงระดับละ 10 เท่า (ten fold serial dilution) โดยใช้ปิเปตปลอดเชื้อ ปิเปตตัวอย่างถั่วเน่าที่เจือจาง $10^{-1}$ ในขั้นต้น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มี peptone water (ภาคผนวก) สำหรับเจือจาง 9 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วเขย่าหลอดทดลองด้วยเครื่องเขย่าไฟฟ้า (mixer) ตัวอย่างอาหารในขั้นนี้จะมีความเจือจาง $10^{-2}$ ทำการเจือจางตัวอย่างต่อไปด้วยวิธีเดียวกันนี้จะได้ระดับความเจือจาง คือ $10^{-3}$, $10^{-4}$,$10^{-5}$,$10^{-6}$ ตามลำดับ

3.1.4 นำตัวอย่างถั่วเน่าที่เจือจางแล้วในข้อ 3.1.3 มาทำการ spread plate บนอาหารเปลือกถั่วเหลือง ระดับความเจือจางละ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน plate อาหารที่เตรียมไว้ จากนั้นใช้แท่งแก้วรูปตัวแอล (L) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเกลี่ยสารละลายเจือจางให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารแข็ง บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.1.5 สุ่มตัวอย่างเชื้อจาก plate ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว ถ่ายลงไปใน อาหารเปลือกถั่วเหลือง slant โดยเทคนิคปลอดเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

สรุปเป็นขั้นตอนการแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่าดังนี้

ชั่งตัวอย่างอาหารใส่ถุงพลาสติกปลอดเชื้อ 25 กรัม เท peptone water 225 มิลลิลิตร

↓

นำไปบดให้เป็นเนื้อเดียวกัน

↓

ทำการเจือจางตัวอย่างอาหารให้ได้ $10^{-6}$

↓

ทำการ spread plate บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

สุ่มตัวอย่างเชื้อจาก plate ที่เป็นโคโลนีเดี่ยว

↓

ถ่ายลงไปใน อาหารเปลือกถั่วเหลือง slant บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

**ภาพที่ 3.1.1** แสดงวิธีการแยกเชื้อจากตัวอย่างถั่วเน่า

3.2 <u>การคัดเลือกเชื้อที่ทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวส์ในอาหารเปลือกถั่วเหลืองได้ดี</u>

3.2.1 นำเชื้อในหลอด slant จากข้อ 3.1.5 มาทำการหมักในอาหารเปลือกถั่วเหลือง broth ที่มีแหล่งไนโตเจน และไม่มีแหล่งไนโตรเจน ใส่ในหลอดทดลองขนาด 18×180 มิลลิเมตร ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรหลอดละ 12 มิลลิลิตร แล้วนำเชื้อในหลอด slant มาเขี่ยเชื้อลงไปในอาหารเหลว แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

3.2.2 ทำการวิเคราะห์น้ำตาลในหลอดอาหารเหลวแต่ละหลอด โดยวิธี Benadict โดยทำการปั่นเหวี่ยงน้ำหมักที่ได้ จากข้อ 3.2.1 ที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเชื้อออกจากน้ำหมัก นำน้ำใสที่แยกเซลล์แล้ว มาหลอดละ 1 มิลลิลิตร เติม Benadict's reagent (ภาคผนวก) หลอดละ 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5-10 นาที สังเกตหลอดที่เกิดตะกอนสีแดงอิฐ

3.2.3 นำเชื้อที่น้ำหมักเกิดตะกอนสีแดงอิฐกับ Benadict's reagent จากข้อ 3.2.2 ที่มีปริมาณตะกอนสีแดงอิฐมากที่สุด 17 เชื้อ มาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยนำเชื้อที่อยู่ในอาหารเปลือกถั่วเหลือง slant แล้วนำไปลากบนผิวอาหารเปลือกถั่วเหลือง บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.4 นำเชื้อโคโลนีเดี่ยว จากข้อ 3.2.3 ถ่ายเชื้อลงในอาหารเปลือกถั่วเหลือง slant เพื่อเก็บเป็นstock เชื้อที่บริสุทธิ์

สรุปขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อที่ทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวส์ได้ดีดังนี้

นำเชื้อในหลอด slant

↓

มาทำการหมักในอาหารเปลือกถั่วเหลือง broth

↓

เข้าเครื่องเขย่าใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

↓

ปั่นเหวี่ยงน้ำหมักที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

↓

นำน้ำใสที่แยกเซลล์แล้ว 1 มิลลิลิตร

↓

เติม Benadict's reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร

↓

ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5-10 นาที สังเกตหลอดที่เกิดตะกอนสีแดงอิฐ

↓

นำเชื้อที่น้ำหมักเกิดตะกอนสีแดงอิฐมากที่สุด 3 เชื้อ

↓

มาทำการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20390



ถ่ายเชื้อลงในอาหารเปลือกถั่วเหลือง slant เพื่อเก็บเป็นstock เชื้อ

**ภาพที่ 3.2.1** แสดงวิธีการคัดเลือกเชื้อที่ทำให้เกิดน้ำตาลรีดิวส์ในอาหารเปลือกถั่วเหลือง

3.3 <u>การศึกษาความสามารถในการผลิต β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้</u>

3.3.1 นำเชื้อที่คัดเลือกได้ จากข้อ 3.2.4 มาถ่ายลงในอาหารเหลวเปลือกถั่วเหลือง แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3.2 แยกเชื้อออกจากน้ำหมัก โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำน้ำใสที่ได้มาทำการทดสอบ β-mannanase activity ตามข้อ 3.3.3

3.3.3 ชั่ง locust bean gum 71.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติม McIlvaine buffer พีเอช 6.8 4.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 ซ. นาน 15 นาที เติมน้ำใสที่แยกได้ จากข้อ 3.3.2 ปริมาณ 1.0 มิลลิลิตร เริ่มจับเวลาจนครบ 30 นาที ปีเปต reaction mixture 1.0 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวส์ โดยใช้วิธี Somogyi- Nelson Method (ภาคผนวก) กำหนดให้ปริมาณ β-mannanase 1 ยูนิต คือปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา ไฮโดรไลซิสของ β-mannan แล้วให้น้ำตาลรีดิวส์ที่เทียบให้เป็นน้ำตาล mannose 1 มิลลิกรัม ในสภาวะที่หนดข้างต้น การคัดเลือกเชื้อที่ให้ β-mannanase activity สูงสุดไว้ศึกษาในข้อ 3.4 ต่อไป

สรุปขั้นตอนการคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิต β-mannanase ได้ดังนี้

นำเชื้อในหลอด slant ถ่ายลงในอาหารเปลือกถั่วเหลือง broth

↓

เข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

↓

ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

↓

นำน้ำใสที่ได้มาทำการทดสอบ activity ของเอนไซม์ β-mannanase

↓

ชั่ง locust bean gum 71.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง

↓

เติม McIlvaine buffer พีเอช 6.8 4.0 มิลลิลิตร

↓

เติมน้ำกลั่น 5.0 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 ซ. นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

เติมน้ำใสที่แยกได้ 1.0 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที

↓

ปิเปต reaction mixture 1.0 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ โดย Somogyi- Nelson Method

↓

คัดเลือกเชื้อที่มี β-mannanase activity สูงสุด

**ภาพที่ 3.3.1** แสดงการคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการผลิต β-mannanase

3.4 <u>ศึกษาความสำคัญของระยะเวลากับการผลิต β-mannanase และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อที่คัดเลือกได้</u>

3.4.1 นำเชื้อที่คัดเลือกได้ จากข้อ 3.3.3 มาถ่ายลงใน ขวดรูปกรวย 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวเปลือกถั่วเหลือง 50 มิลลิลิตร จำนวน 20 ขวด ในอัตราร้อยละ 5 แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบ 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง นำขวดรูปกรวยออกจากเครื่องเขย่าครั้งละ 3 ขวด ทำการปิเปตตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร นำไปวัดพีเอช แล้วนำตัวอย่างที่เหลือมา แยกเชื้อออกจากน้ำหมัก โดยทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที น้ำใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ β-mannanase activity ตามวิธีในข้อ 3.3.3 ขวดละ 3 ซ้ำ

3.4.2 นำน้ำใสที่ได้จากข้อ 3.4.1 ที่มี β-mannanase activity สูงสุด ไปทำการทดลองในข้อ 3.5 ต่อไป

สรุปขั้นตอนความสำคัญของระยะเวลากับการผลิต β-mannanase และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อที่คัดเลือกได้

นำเชื้อที่คัดเลือกได้ถ่ายลงใน ขวดรูปกรวย 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลวเปลือกถั่วเหลือง 50 มิลลิลิตรจำนวน 20 ขวด ในอัตราร้อยละ 5

↓

เข้าเครื่องเขย่า ใช้ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบ 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง

↓

นำขวด ออกจากเครื่องเขย่าครั้งละ 3 ขวด ทำการปิเปตตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร

↓

นำไปวัดพีเอช

↓

นำตัวอย่างที่เหลือมา ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

↓

น้ำใสที่ได้นำไปวิเคราะห์ β-mannanase activity

↓

นำน้ำใสที่มี β-mannanase activity สูงสุด ไปทำการทดลองในข้อ 3.5

**ภาพที่ 3.4.1** แสดงความสำคัญของระยะเวลากับการผลิต β-mannanase และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อทีคัดเลือกได้

3.5 <u>การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ</u>

ในการวิเคราะห์ β-mannanase activity เตรียมสารละลายสับสเตรท โดยใช้ 0.1 M McIlvaine buffer พีเอช ต่างๆ กัน คือ พีเอช 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0 จำนวน 6 ชุด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35, 40, 45, 50, 55, 60° ซ. นาน 15 นาที ปิเปตน้ำส่วนใสที่ได้จากข้อ 3.4.2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร จับเวลาจนครบ 30 นาที ปิเปต reaction mixture 1.0 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวส์ โดยใช้วิธี Somogyi- Nelson Method

สรุปขั้นตอนความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เตรียมสารละลาย substrate โดยใช้ 0.1 M McIlvaine buffer พีเอช ต่างๆ กัน

คือพีเอช 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0

↓

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35, 40, 45, 50, 55, 60° ซ. นาน 15 นาที

↓

ปิเปตน้ำส่วนใส 1 มิลลิลิตร จับเวลาจนครบ 30 นาที

↓

ปิเปต reaction mixture 1.0 มิลลิลิตร นำไปวิเคราะห์ปริมาณของน้ำตาลรีดิวส์

↓

เลือกช่วงพีเอช และอุณหภูมิที่เหมาะสม ที่ให้ β-mannanase activity สูงสุด

↓

เป็นพีเอช และ อุณหภูมิที่เหมาะสม

**ภาพที่ 3.5.1** แสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล
# ( Findings and Results )

**ผลการวิจัย**

การศึกษาประสิทธิภาพของเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้เรื่อง "เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ" แบ่งได้เป็น 3 ส่วนดังนี้

1. การประเมินประสิทธิโดยผู้เชี่ยวชาญ
2. การประเมินความพึงพอใจโดยกลุ่มตัวอย่าง
3. การประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของกลุ่มตัวอย่าง

การประเมินโดยผู้เชี่ยวชาญจำนวนทั้งหมด 5 ท่าน โดยแต่ละท่านจะมีความรู้ใน เรื่องเครื่องดื่มสมุนไพร และมีประสบการณ์ทางด้านการออกแบบสื่อ ซึ่งทั้งหมดใช้ชุดแบบสอบถามชุดเดียวกันโดยแบ่งเป็น 3 ด้าน คือ ด้านเนื้อหา ด้านการออกแบบ ด้านการนำไปใช้ ส่วนการประเมินโดยกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นบุคคลทั่วไปที่สนใจเรื่องเครื่องดื่มสมุนไพรจำนวน 30 คน ทำการประเมินความพึงพอใจ จากแบบสอบถามและประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนจากแบบทดสอบก่อนเรียนและหลังเรียน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่** 1 ตารางจำแนกลักษณะของกลุ่มตัวอย่าง

| | | จำนวน | ร้อยละ |
|---|---|---|---|
| เพศ | | | |
| | ชาย | 11 | 36.66 |
| | หญิง | 19 | 63.33 |
| อายุ | | | |
| | 15-30 | 28 | 93.33 |
| | 31-60 | 2 | 6.66 |
| อาชีพ | | | |
| | นักเรียนนักศึกษา | 25 | 83.33 |
| | ข้าราชการ | 1 | 3.33 |
| | ลูกจ้าง | 3 | 10.00 |
| | แม่บ้าน | 1 | 3.33 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่** 2 แสดงค่าเฉลี่ย( $\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการประเมินประสิทธิภาพของเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้ด้านเนื้อหาโดยผู้เชี่ยวชาญ

| หัวข้อการประเมิน | คนที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | รวม | $\overline{X}$ | SD | ระดับประสิทธิภาพ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. ความถูกต้องของเนื้อหา | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 19 | 3.8 | 0.44 | ดี |
| 2. ความครอบคลุมของเนื้อหากับชื่อเรื่อง | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 22 | 4.4 | 0.54 | ดีมาก |
| 3. ปริมาณของเนื้อหา | 4 | 5 | 3 | 4 | 4 | 20 | 4.0 | 0.70 | ดี |
| 4. เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ | 4 | 5 | 4 | 5 | 5 | 23 | 4.6 | 0.54 | ดีมาก |
| 5. ความเหมาะสมของการจัดอันดับหัวข้อ | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 4.0 | 0.00 | ดี |
| 6. รายละเอียดเนื้อหาในแต่ละหัวข้อ | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 21 | 4.2 | 0.44 | ดีมาก |
| 7. ความสัมพันธ์ของภาพในการสื่อความหมายและสัมพันธ์กับเนื้อหา | 4 | 5 | 4 | 3 | 4 | 20 | 4.0 | 0.70 | ดี |
| 8. ภาษาที่ใช้ง่ายต่อการเข้าใจ | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3.6 | 0.54 | ดี |
| 9. แบบทดสอบมีความถูกต้องครอบคลุมเนื้อหา | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 4.0 | 0.00 | ดี |
| ค่าเฉลี่ย $\overline{X}$ | 3.7 | 4.4 | 3.7 | 4.1 | 4.2 | 20.3 | 4.06 | 0.43 | ดี |

จากตารางที่ 2 ผลของการประเมินในด้านเนื้อหาโดยผู้เชี่ยวชาญพบว่า ประสิทธิภาพโดยรวมอยู่ในขั้นดี มีค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) เท่ากับ 4.06 และมีค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน(SD)เท่ากับ 0.43 แบ่งได้เป็นหัวข้อที่ได้ระดับดีมาก คือ ความครอบคลุมของเนื้อหากับชื่อเรื่อง เนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ รายละเอียดในแต่ละหัวข้อมีค่า หัวข้อที่ได้ระดับดี คือ ความถูกต้องของเนื้อหา ปริมาณของเนื้อหา ความเหมาะสมของการจัดหัวข้อ ความสัมพันธ์ของภาพในการสื่อความหมายและสัมพันธ์กับเนื้อหา และแบบทดสอบมีความถูกต้องครอบคลุมเนื้อหา ภาษาที่ใช้ง่ายต่อการเข้าใจ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการประเมินประสิทธิภาพของ เว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้ด้านการออกแบบโดยผู้เชี่ยวชาญ

| หัวข้อการประเมิน | คนที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | รวม | $\overline{X}$ | SD | ระดับประสิทธิภาพ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. การใช้สีพื้นหลัง | 4 | 5 | 5 | 4 | 5 | 23 | 4.6 | 0.54 | ดีมาก |
| 2. การจัดองค์ประกอบของหน้าจอโดยรวม | 4 | 5 | 5 | 4 | 4 | 22 | 4.4 | 0.54 | ดีมาก |
| 3. ความสวยงามในภาพรวม | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 22 | 4.4 | 0.54 | ดีมาก |
| 4. ขนาดของตัวอักษร | 3 | 5 | 4 | 3 | 3 | 18 | 3.6 | 0.89 | ดี |
| 5. รูปแบบของตัวอักษร | 3 | 5 | 4 | 3 | 4 | 19 | 3.8 | 0.83 | ดี |
| 6. สีของตัวอักษร | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 18 | 3.6 | 0.54 | ดี |
| 7. ความชัดเจนของภาพประกอบ | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 19 | 3.8 | 0.44 | ดี |
| 8. การใช้เมนู | 4 | 4 | 5 | 5 | 3 | 21 | 4.2 | 0.83 | ดี |
| 9. ปุ่มเชื่อมโยง | 5 | 5 | 5 | 4 | 4 | 23 | 4.6 | 0.54 | ดีมาก |
| 10. การมีปฏิสัมพันธ์ในบทเรียน | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 19 | 3.8 | 0.44 | ดี |
| ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) | 3.8 | 4.5 | 4.4 | 3.8 | 3.9 | 20.4 | 4.08 | 0.61 | ดี |

จากตารางที่ 3 ผลของการประเมินในด้านการออกแบบ โดยผู้เชี่ยวชาญพบว่า ประสิทธิภาพโดยรวมอยู่ในขั้นดี มีค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) เท่ากับ 4.08 และค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน(SD)มีค่าเท่ากับ 0.61 เมื่อพิจารณาในแต่ละหัวข้อ หัวข้อที่อยู่ในระดับดีมาก คือ การใช้สีพื้นหลังและปุ่มเชื่อมโยง การจัดองค์ประกอบของหน้าจอโดยรวม และความสวยงามในภาพรวม หัวข้อที่อยู่ในระดับดี คือ ขนาดของตัวอักษร และสีของตัวอักษร รูปแบบของตัวอักษร ความชัดเจนของภาพประกอบและการมีปฏิสัมพันธ์ในบทเรียน การใช้เมนู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4** แสดงค่าเฉลี่ย( $\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการประเมินประสิทธิภาพของ เว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้ด้านการนำไปใช้โดยผู้เชี่ยวชาญ

| หัวข้อการประเมิน | คนที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | รวม | $\bar{X}$ | SD | ระดับประสิทธิภาพ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. เว็บไซต์มีความน่าสนใจกระตุ้นให้เกิดการเรียนรู้ | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 20 | 4.0 | 0.00 | ดี |
| 2. การใช้งานง่าย สะดวก | 4 | 5 | 5 | 4 | 3 | 21 | 4.2 | 0.83 | ดีมาก |
| 3. ประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการนำเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้เรื่องเครื่องดื่มสมุนไพร ไปใช้ในการเรียนรู้ | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 21 | 4.2 | 0.44 | ดีมาก |
| ค่าเฉลี่ย (X) | 4 | 4.6 | 4.3 | 4 | 3.6 | 20.6 | 4.13 | 0.42 | ดี |

จากตารางที่ 4 ผลของการประเมินในด้านการนำไปใช้ โดยผู้เชี่ยวชาญพบว่า ประสิทธิภาพโดยรวมอยู่ในขั้นดี มีค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) มีค่าเท่ากับ 4.13 และค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (SD)มีค่าเท่ากับ 0.42 เมื่อพิจารณาในแต่ละหัวข้อ หัวข้อที่อยู่ในระดับดีมาก คือ การใช้งานง่าย สะดวก และประสิทธิภาพและความเหมาะสมในการนำเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้ เรื่องเครื่องดื่มสมุนไพร ไปใช้ในการเรียนรู้ หัวข้อที่อยู่ในระดับดี คือ เว็บไซต์มีความน่าสนใจกระตุ้นให้เกิดการเรียนรู้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5** แสดงค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการประเมินประสิทธิภาพของ เว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้สรุปโดยภายรวมของผู้เชี่ยวชาญ

| หัวข้อการประเมิน | คนที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | รวม | $\overline{X}$ | SD | ระดับประสิทธิภาพ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. ด้านเนื้อหา | 3.7 | 4.4 | 3.7 | 4.1 | 4.2 | 20.3 | 4.06 | 0.43 | ดี |
| 2. ด้านการออกแบบ | 3.8 | 4.5 | 4.4 | 3.8 | 3.9 | 20.4 | 4.08 | 0.61 | ดี |
| 3. ด้านการนำไปใช้ | 4.0 | 4.6 | 4.3 | 4.0 | 3.6 | 20.6 | 4.13 | 0.42 | ดี |
| ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) | 3.83 | 4.5 | 4.13 | 3.96 | 3.9 | 20.43 | 4.09 | 0.48 | ดี |

จากตารางที่ 5 สามารถสรุปประสิทธิภาพของเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้อยู่ในระดับดี มีค่าเฉลี่ย($\overline{X}$) เท่ากับ 4.09 และมีค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน(SD) เท่ากับ 0.48 ซึ่งหัวข้อที่อยู่ในระดับดี คือ ด้านเนื้อหา ด้านการออกแบบ ด้านการนำไปใช้

**ข้อเสนอแนะจากผู้เชี่ยวชาญ**

1. ความถูกต้องของตัวอักษร ยังพบคำผิดอยู่บ้าง
2. ตัวอักษรมีขนาดเล็กเกินไป
3. รูปแบบของตัวอักษรยังไม่น่าสนใจ
4. ตัวอักษรยังไม่คมชัดเท่าที่ควร
5. ภาพบางภาพยังไม่เหมาะสมสอดคล้องกับเนื้อหา
6. ภาพประกอบมีขนาดเล็กเกินไป
7. สีสวย สะอาดดี แต่ดูจืดจางไปหน่อย ควรใช้สีเข้มตัดในบางจุด
8. น่าจะเพิ่มเสียงประกอบเพิ่มความน่าสนใจ
9. ควรบอกรายละเอียดการใช้ปุ่มในแบบทดสอบ
10. แบบทดสอบไม่ควรถามชื่อวิทยาศาสตร์ เน้นเรื่องสรรคุณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่** 6 แสดงค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการประเมินความพึงพอใจโดยกลุ่มตัวอย่าง

| หัวข้อการประเมิน | คนที่ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | $\bar{X}$ | SD | ระดับประสิทธิภาพ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1. ความสะดวกในการเรียนผ่านเว็บไซด์ | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4.16 | 0.46 | ดี |
| 2.สามารถสื่อให้เข้าใจในเนื้อหาได้ | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4.16 | 0.53 | ดี |
| 3.การจัดเรียงลำดับเนื้อหา / หัวข้อให้เข้าใจง่าย | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4.20 | 0.55 | ดีมาก |
| 4. เว็บไซด์มีลักษณะจูงใจและน่าสนใจ | 3 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4.13 | 0.68 | ดี |
| 5. เว็บไซด์มีความสวยงามโดยภาพรวม | 4 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 3 | 4 | 4 | 3 | 3 | 5 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4.20 | 0.66 | ดีมาก |
| 6.ตัวอักษรอ่านง่าย | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3 | 5 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 4 | 3 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3.76 | 0.67 | ดี |
| 7.ภาพประกอบมีความชัดเจนสวยงาม | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3 | 3 | 5 | 4 | 4 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4.20 | 0.66 | ดีมาก |
| 8. การใช้งานเมนูและปุ่มต่างๆ | 3 | 4 | 4 | 4 | 5 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 5 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 3 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3.86 | 0.57 | ดี |
| 9. รูปแบบของแบบทดสอบ | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 3.93 | 0.52 | ดี |
| 10. เว็บไซด์นี้ช่วยให้ท่านเกิดความรู้เกี่ยวกับเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพได้ดี | 4 | 4 | 4 | 5 | 4 | 3 | 5 | 5 | 3 | 3 | 4 | 5 | 4 | 3 | 5 | 4 | 5 | 4 | 5 | 4 | 4 | 4 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 5 | 5 | 4 | 4.13 | 0.68 | ดี |
| ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) | 3.7 | 3.9 | 4.1 | 4.3 | 4.4 | 3.9 | 3.9 | 4.5 | 3.7 | 3.7 | 3.7 | 4.6 | 4.0 | 3.7 | 4.1 | 4.5 | 4.1 | 4.3 | 4.0 | 4.5 | 4.3 | 3.7 | 3.8 | 3.8 | 4.0 | 4.1 | 4.3 | 4.1 | 4.2 | | 4.07 | 0.59 | ดี |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 6 ผลการทดสอบความพึงพอใจของเว็บไซต์เครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ โดยบุคคลทั่วไป ผลปรากฏว่าอยู่ในระดับดี มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ ($\overline{X}$) 4.07 และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานมีค่าเท่ากับ 0.59 เมื่อพิจารณาในแต่ละหัวข้อสามารถแบ่งได้ได้ในระดับดีมาก คือ การจัดเรียงลำดับเนื้อหา /หัวข้อให้เข้าใจง่าย เว็บไซต์มีความสวยงามโดยภาพรวม ภาพประกอบมีความชัดเจน สวยงาม ระดับดี คือ ความสะดวกในการเรียนผ่านเว็บไซต์ สามารถสื่อให้เข้าใจในเนื้อหาได้ เว็บไซต์มีลักษณะจูงใจและน่าสนใจ ตัวอักษรอ่านง่าย การใช้งานเมนูและปุ่มต่างๆ รูปแบบของแบบทดสอบ เว็บไซต์ช่วยให้ท่านเกิดความรู้เกี่ยวกับเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการเปรียบเทียบการทำแบบทดสอบก่อน-หลัง

| หัวข้อการประเมิน คนที่ | แบบทดสอบก่อนเรียน | แบบทดสอบหลังเรียน |
|---|---|---|
| 1. | 15 | 15 |
| 2. | 8 | 19 |
| 3. | 11 | 16 |
| 4. | 11 | 15 |
| 5. | 11 | 17 |
| 6. | 12 | 17 |
| 7. | 11 | 17 |
| 8. | 6 | 14 |
| 9. | 15 | 18 |
| 10. | 10 | 17 |
| 11. | 12 | 14 |
| 12. | 9 | 17 |
| 13. | 9 | 14 |
| 14. | 11 | 14 |
| 15. | 13 | 16 |
| 16. | 7 | 18 |
| 17. | 10 | 17 |
| 18. | 12 | 17 |
| 19. | 8 | 18 |
| 20. | 8 | 19 |
| 21. | 11 | 15 |
| 22. | 10 | 16 |
| 23. | 6 | 19 |
| 24. | 8 | 18 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 7 (ต่อ)** แสดงค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน ( SD) ผลการเปรียบเทียบการทำแบบทดสอบ ก่อน-หลัง

| หัวข้อการประเมิน คนที่ | แบบทดสอบก่อนเรียน | แบบทดสอบหลังเรียน |
|---|---|---|
| 25. | 11 | 17 |
| 26. | 8 | 17 |
| 27. | 10 | 17 |
| 28. | 11 | 16 |
| 29. | 9 | 16 |
| 30. | 14 | 18 |
| รวม | 307 | 498 |
| ค่าเฉลี่ย ($\overline{X}$) | 10.1 | 16.6 |
| ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (SD) | 2.33 | 1.49 |
| T-test | | 11.56 |
| df | | 29 |
| Sig | | 0.000* |

*มีค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 7 พบว่าคะแนนเฉลี่ย $\overline{X}$ และส่วนเบี่ยงเบนมาตราฐาน (SD) ของคะแนนก่อนเรียนผ่านเว็บไซต์ของกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 10.1 และ 2.33 ตามลำดับ คะแนนเฉลี่ย $\overline{X}$ และค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน (SD) ของคะแนนหลังเรียนผ่านเว็บไซต์ของกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 16.6 และ 1.50 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบคะแนนก่อนและหลังเรียนพบว่าคะแนนหลังเรียนสูงกว่าหลังเรียนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ลำดับ .05 ค่า t ที่ได้จากจากคำนวณมีค่าเท่ากับ 11.45 ซึ่งมากกว่าค่า t ที่ได้จากการเปิดตารางที่ลำดับนัยสำคัญที่ .05 , Df เท่ากับ 29 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.045

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิจารณ์ผลการวิจัย**

จากการศึกษาวิจัยจัดทำเว็บเพื่อการเรียนรู้เรื่องเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพ ได้ดำเนินการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญทั้งในด้านเนื้อหาและการออกแบบ ซึ่งผลการประเมินปรากฏว่าประสิทธิภาพในภาพรวมอยู่ในระดับดีมีค่าเฉลี่ย (X)เท่ากับ 4.$\overline{13}$ และค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน(SD)มีค่าเท่ากับ 0.42 ในส่วนของเนื้อหาโดยรวมอยู่ในระดับดี ส่วนของการออกแบบอยู่ในระดับดี ส่วนของการนำไปใช้อยู่ในระดับดี จะเห็นได้ว่าผลการประเมินประสิทธิภาพจากผู้เชี่ยวชาญอยู่ในระดับที่น่าพอใจ ส่วนความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นบุคคลทั่วไปที่สนใจเรื่องเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพอยู่ในระดับดี มีค่าเฉลี่ยที่ 4.07 ในส่วนของการประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรู้ผลปรากฏว่าคะแนนแบบทดสอบหลังเรียนมีคะแนนสูงกว่าคะแนนแบบทดสอบก่อนเรียน แสดงให้เห็นว่าเว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้เรื่องเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อสุขภาพเหมาะสมในจะนำไปใช้ในการเรียนรู้ด้วยตนเองผ่านระบบเครือข่ายสามารถกระตุ้นและทำให้เกิดการเรียนรู้ได้ด้วยตนเองเป็นอย่างดี เป็นการส่งเสริมการเรียนรู้ด้วยตนเองอย่างมีประสิทธิภาพซึ่งสอดคล้องกับคำกล่าวของผศ.ดร.ถนอมพร เลาหจรัสแสง(2545) ที่ว่า"เว็บไซต์เพื่อการเรียนรู้ช่วยขยายโอกาสในการเข้าถึงเนื้อหาการเรียนรู้ของผู้เรียนได้จริง" ทั้งยังเป็นฐานข้อมูลหรือเป็นแนวทางสำหรับผู้ที่สนใจในเรื่องเครื่องดื่มสมุนไพรอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องและตรงกับวัตถุประสงค์ของผู้จัดทำ

จากผลการประเมินประสิทธิภาพจากผู้เชี่ยวชาญ ในเรื่องของเนื้อหาคะแนนการประเมินจะค่อนข้างใกล้เคียงกัน หัวข้อที่ที่ได้คะแนนประเมินมาที่สุดเป็นหัวข้อความครอบคลุมของเนื้อหา และเนื้อหาสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ เป็นเพราะผู้วิจัยพยายามจะหาข้อมูลในการทำเว็บไซต์ให้ครอบคลุมกับวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ จึงทำให้ได้เนื้อหาที่ครอบคลุมและตรงตามวัตถุประสงค์ แต่จุดด้อยสุดของด้านเนื้อหา คือ ภาษาที่ใช้ในเว็บไซต์ เนื่องจากผู้วิจัยได้นำข้อมูลมาจากหลายแหล่งมารวมกัน จึงมีความแตกต่างกันด้านของภาษา และตัวผู้วิจัยเองไม่สันทัดในเรื่องนี้ ทำให้เนื้อหาบางหัวข้ออ่านเข้าใจยาก อีกอย่างอาจเป็นเพราะการจัดหน้าตัวอักษรที่ทำได้ยากทำให้ตัวหนังสือกระโดด บางประโยคไม่ได้การเว้นวรรคคำก็ทำให้อ่านยากเช่นกัน ในด้านการออกแบบจุดเด่นในหัวข้อนี้เป็นเรื่องของการใช้สีพื้นหลัง การจัดองค์ประกอบของหน้าจอโดยรวม ความสวยงามในภาพรวม และปุ่มเชื่อมโยง เนื่องจากผู้วิจัยพยายามใช้สีสันให้เรียบง่ายแต่ดูดี และให้สอดคล้องกับเรื่องของธรรมชาติและสุขภาพ จึงใช้สีโทนเขียวกับสีขาว ปุ่มเชื่อมโยงต่างๆ ทำให้มีการตอบสนองผู้ปฏิสัมพันธ์กับผู้ใช้เพื่อให้มีความน่าสนใจและดึงดูดมากขึ้น แต่ข้อด้อยของหัวข้อการออกแบบเป็นเรื่องของแบบ สี และขนาดของตัวอักษร แบบของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอักษรผู้วิจัยใช้แบบ Angsana New ขนาด 16 สีดำ ซึ่งผู้เชี่ยวชาญเห็นว่า ตัวอักษรอ่านยาก มีขนาดเล็กและเรียบเกินไป ไม่มีจุดเด่น ในด้านการนำไปใช้คะแนนการประเมินจากผู้เชี่ยวชาญมีความใกล้เคียงกันในทั้ง 3 เรื่องซึ่งอยู่ในระดับดี

การประเมินความพึงพอใจของกลุ่มตัวอย่างจำนวน 30 คน จะเห็นได้ว่าหัวข้อที่กลุ่มตัวอย่างให้คะแนนมากที่สุดคือเรื่อง เว็บไซต์มีความสวยงามโดยภาพรวม ภาพประกอบมีความสวยงามชัดเจนและการเรียงเนื้อหาง่ายต่อการเข้าใจ ซึ่งเหตุผลคงไม่ต่างจากผู้เชี่ยวชาญที่เห็นว่าเว็บไซต์มีเนื้อหาที่ครอบคลุมตามชื่อเรื่องทำให้ง่ายต่อการเรียน เว็บไซต์เน้นความเรียบง่าย สีสวย ดูสะอาดเป็นที่ชื่นชอบของผู้ประเมิน ภาพที่ใช้ประกอบมีสีสันสดใสและสวยงามแม้บางภาพจะไม่สอดคล้องกับเนื้อหาบ้างก็ตาม ข้อด้อย กลุ่มตัวอย่างมีความคิดเห็นเดียวกับผู้เชี่ยวชาญคือ ตัวอักษรที่อ่านยาก มีความเรียบง่ายเกินไปทั้งแบบ ขนาดและสีของตัวอักษรทำให้ไม่อยากอ่าน เหมือนเปิดหนังสืออ่าน ทำให้น่าเบื่อ

การประเมินผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนรู้โดยทางทำแบบทดสอบก่อนและหลังเรียน สังเกตได้ว่ากลุ่มตัวอย่างที่ทำการประเมินจะมีความตั้งใจและสนใจที่จะทำแบบประเมินก่อนเรียนมากกว่าแบบทดสอบหลังเรียน เพราะเนื้อหาภายในมีหลายหน้า ผู้ประเมินหลายคนอ่านไม่จบ แล้วไปทำแบบทดสอบหลังเรียน จึงทำให้คะแนนแบบทดสอบหลังเรียนมีคะแนนไม่สูงมากนัก ประกอบกับแบบทดสอบก่อนเรียนยังทำได้ไม่ดีนัก ผู้ประเมินหลายคนจึงคาดเดาคำตอบได้ไม่ยากจึงทำให้คะแนนแบบทดสอบก่อนเรียนคะแนนไม่ต่ำนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

## สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

จากการที่ทำการแยกเชื้อและคัดเลือกเชื้อจากถั่วเน่า ได้ทำการสุ่มเชื้อมาได้ทั้งหมด 32 เชื้อ ได้นำเชื้อทั้งหมดมาทำการตรวจหาน้ำตาลรีดิวส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลือกถั่วเหลือง เชื้อที่ทำให้เกิดตะกอนสีแดงอิฐจากการทำปฏิกิริยากับ Benadict's reagent ได้เชื้อ 17 เชื้อ นำเชื้อทั้ง 17 เชื้อมาทำการตรวจหา β-mannanase activity เพื่อให้ได้เชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์ β-mannanase ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดจากเชื้อทั้งหมด 17 เชื้อ ซึ่งเชื้อที่มี β-mannanase activity สูงสุดคือเชื้อรหัส TN-6 นำเชื้อนี้มาหาการผลิตเอนไซม์ β-mannanase จากเวลาต่าง ๆ ซึ่งเชื้อรหัส TN- 6 สามารถผลิตเอนไซม์ β-mannanase สูงสุดที่เวลา 72 ชั่วโมง นำน้ำส่วนใสที่ได้จากการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ที่เวลา 72 ชั่วโมง มาหาค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งผลพีเอชที่อุณหภูมิ 35 ซ จะเห็นว่าพีเอชที่มี relative activity เกินร้อยละ 80 อยู่ระหว่างพีเอช 4.5 – 7.0 อุณหภูมิ 40-45˚ซ จะได้พีเอชที่อยู่ระหว่างพีเอช 4.0 – 6.5 และที่อุณหภูมิที่ 50 -60˚ซ จะได้พีเอชที่อยู่ระหว่างพีเอช 5.0- 5.5

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

1. ควรเลือกวิธีการเตรียมสาร Somogyi- Nelson Method ที่ไม่มีฟองเวลาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง เพราะฟองจะทำให้ค่าการวัดไม่คงที่ และทำให้ผลที่ได้คลาดเคลื่อน
2. สับสเตรทที่ใช้เมื่อทำการตรวจ β-mannanase activity จะเกิดตะกอนเมื่อทำปฏิกิริยากับสาร Nelson จึงมีผลต่อการวัด จึงควรทำการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนออกก่อน
3. ถ้าเอนไซม์สามารถคงทนอยู่ใน พีเอชต่ำได้ ก็จะสามารถทำให้เอนไซม์เมื่อผ่านกระเพาะไปยังลำไส้เล็กแล้วสามารถทำการย่อยต่อได้
4. ควรทำการศึกษาความคงทนของเอนไซม์
5. เอนไซม์นี้อาจไม่เหมาะสมที่สภาวะพีเอชต่ำ ๆ ซึ่งเอนไซม์จะทำงานได้ดีที่พีเอช 4-7

<u>วิจารณ์ผลการทดลอง</u>

จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าน้ำหมักที่นำมาทำการทดลอง อาจมีเอนไซม์หลายชนิด จึงทำให้พีเอชที่เหมาะสมนั้นมีช่วงกว้างมาก เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นก็จะทำให้เอนไซม์บ้างตัวเสียสภาพ จึงทำให้ช่วงพีเอชที่เหมาะสมนั้นแคบลง เพราะฉะนั้นหากจะนำน้ำหมักไปใช้ในการเร่งปฏิกิริยา hydrolysis ของ mannan ควรใช้อุณหภูมิที่ไม่เกิน 50˚ซ ที่พีเอชไม่ต่ำกว่า 4.5 และไม่สูงเกิน 6.5 ซึ่งจะใช้ได้ในช่วงพีเอชกว้าง ซึ่งถ้าอุณหภูมิที่เกิน 50˚ซ จะทำให้ยุ่งยากในการปรับพีเอช เนื่องจากอุณหภูมิที่เกิน 50˚ซ จะใช้พีเอชได้ในช่วงแคบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

ChemGen Corp. 1999. Hemicell Feed Enzyme Field and Pen Trail Data For Swine, Broilers, Laying Hens and Turkeys. 3-7 P.

Kusakabe Isao,Yoshida Shigeki. 1995. Beta-mannanase-Producing Microorganism and Production of Beta-mannanase. (Online) Avaliable: http://www4.ipdl.ncipi.go.jp/Tokujitu/ PAJdetail.ipdl

Rick Mendosa. The Glycemic Index and the Glycemic Response. (Online) Avaliable: http//www.healthchecksystems.com/glycemic.htm

Katsuro Yaoi and Yasushi Mitsuishi. Purification, Characterization, Cloning, and Expression of a Novel Xyloglucan-specific Glycosidase, Oligoxyloglucan Reducing End-specific Cellobiohydrolase*. (Online) Avaliable: http://www.jbc.org/cgi/content/full/277/50/48276

Eriksson, A.F.V. Purification and characterisation of a fungal b-mannanase. Acta Chem. Scand. 22 (1968) 1924-1934.(Online) Avaliable:http//www.biochem.ucl.ac.uk/bsm/enzymes/ec3/ ec02/ec01/ec0078/

Reese, E.T. b-Mannanases of fungi. Can. J. Microbiol. 11 (1965) 167-183. (Online) Avaliable:http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/enzyme/EC3/2/1/78.html

Araki, T. and Kitamikado, M. Purification and characterization of a novel exo-b-mannanase from Aeromonas sp. F-25. J. Biochem. (Tokyo) 91 (1982) 1181-1186. [Medline UI: 82239227](Online) Avaliable:http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=168313 &rendertype=abstract

ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม. 2547. เอกสารประกอบการสอน วิชาเอนไซม์ทางอาหาร. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร.หน้า 75-81

ปรีชา สุวรรณพินิจ, นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2546. ชีววิทยา 1 .สำนักแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. หน้า 62

ปราณีย์ อ่านเปรื่อง. 2547. เอนไซม์ทางอาหาร. สำนักแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.หน้า 65-73

เกียรติศักดิ์ สร้อยสุวรรณ.2544. โภชนศาสตร์และการให้อาหารสัตว์ปีก. คณะวิชาสัตวศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. หน้า 67-68

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.สำนักพิมพ์โอเดียนสโตว์.หน้า 80-81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

## วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ทดสอบ

การเตรียมอาหารเปลือกถั่วเหลืองที่ใช้ในการวิเคราะห์เอนไซม์

1. ชั่งส่วนผสมต่างๆ ตามสูตรอาหารดังนี้

| | |
|---|---|
| Peptone | 12 กรัม |
| Yeast extract | 5 กรัม |
| $KH_2PO_4$ | 10 กรัม |
| $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ | 0.5 กรัม |
| Agar | 15 กรัม |
| เปลือกถั่วเหลืองบด | 30 กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 ลิตร |

2. ละลายส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่นให้ความร้อนคนด้วยแท่งแก้วอย่างสม่ำเสมอจนกระทั่งวุ้นละลาย

3. บรรจุอาหารลงในขวดบรรจุอาหาร ประมาณครึ่งขวด ปิดปากขวดด้วยฝาเกลียว นำไปฆ่าเชื้อ

การเตรียม peptone water

ชั่ง peptone 1 กรัม ผสมลงในน้ำ 1 ลิตร คนให้เข้ากันโดยใช้ความร้อนจนละลายแล้วเทใส่ในขวดนำไปฆ่าเชื้อ

วิธีวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi- Nelson Method

1. เตรียมน้ำยา Somogyi

น้ำยา Somogyi I

เตรียมโดยละลาย $Na_2SO_4$ 72 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว 250 มิลลิลิตร เติม $NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$ 6 กรัม เติม $Na_2CO_3$ 12 กรัม และ $NaHCO_3$ 8 กรัม คนให้ละลายทีละอย่างตามลำดับ แล้วเติมน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้วจนมีปริมาตร 400 มิลลิลิตร

น้ำยา Somogyi II

เตรียมโดยละลาย $Na_2SO_4$ 18 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มเดือดแล้ว 75 มิลลิลิตร เติม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 2 กรัม แล้วถ่ายใส่ขวดตวงปริมาตรแล้วเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมน้ำยา Somogyi I และ Somogyi II ในอัตราส่วน 4 ต่อ 1 โดยปริมาตร ก่อนใช้

2.น้ำยา Nelson

เตรียมโดยละลาย$(NH_4)_6Mo_7O_{24}$ 25 กรัม ในน้ำกลั่นที่ต้มให้เดือดแล้ว 450 มิลลิลิตร เติม conc.$H_2SO_4$ 21 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสารละลายของ $Na_2HAsO_7$ 12 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วสีน้ำตาล 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้คงตัวก่อนนำมาใช้

วิธีวิเคราะห์

1. ดูดสารละลายตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ทั้งหมดไม่เกิน 50 ไมโครกรัม ลงในหลอดทดสอบ เติม Somogyi ที่ผสมแล้ว 1 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด 15 นาที

2. ทำให้เย็นโดยการแช่ในน้ำเย็น เติมน้ำยา Nelson 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยวัดเทียบกับ blank ซึ่งใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่างสาร

3. อ่านค่าความเข้มข้นของกลูโคสจากการมาตรฐาน ซึ่งได้จากการทดลองวิธีเดียวกัน โดยใช้น้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

การเตรียม Benadict's reagent

1. Sodium citrate 173 กรัม

Sodium carbonate 100 กรัม

ผสมลงในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร คนให้ละลาย

2. Copper sulfate 17.3 กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

นำสารจากข้อ 2 เทผสมลงในสารจากข้อ 1 พร้อมกับคน

การเตรียม Mcllvaine buffer

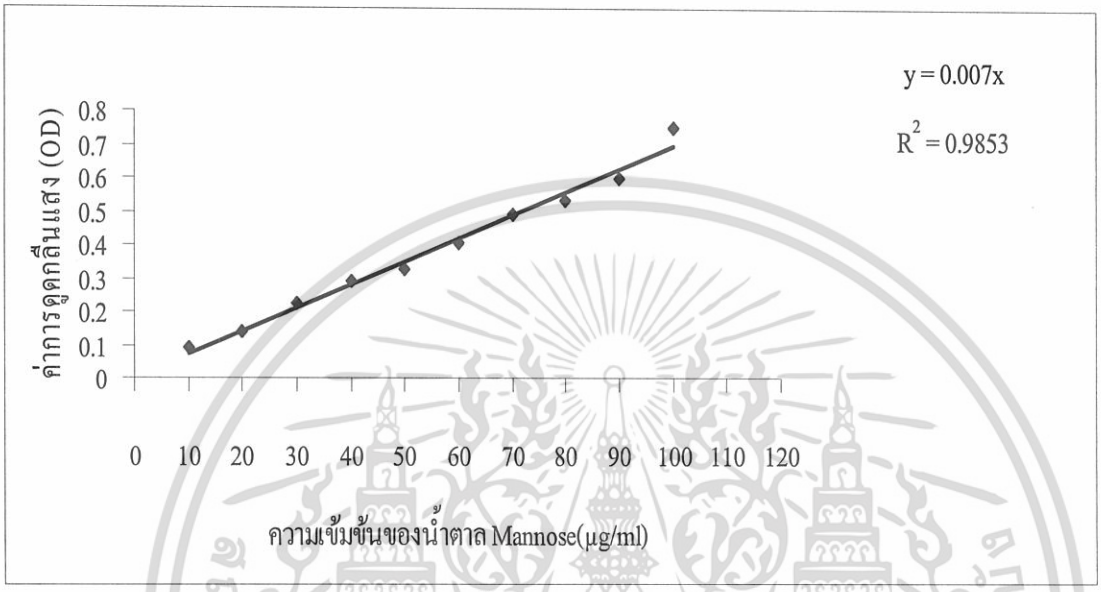
เตรียมจาก 0.2 M disidium hydrogen phosphate และ 0.1 M citric acid นำมาผสมกันและทำการวัดด้วย พีเอชมิเตอร์จนได้ค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่ต้องการ

การเทียบมาตราฐานของน้ำตาล mannose

กราฟแสดงมาตรฐานของน้ำตาล mannoseที่จะใช้ในการคำนวณหา ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นในการตรวจสอบ β-mannanase activity จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง นำมาคำนวณค่าน้ำตาลจากการวิเคราะห์ β-mannanase activity จากเชื้อทั้ง 17 เชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยนำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณ จะได้น้ำตาลที่มีหน่วยเป็น ไมโครกรัม ซึ่งต้องทำการเปลี่ยนให้เป็น มิลลิกรัม แล้วนำไปคำนวณ β-mannanase activity ต้องคูณความเจือจางกลับเพื่อให้ได้ค่าเป็น หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อได้แล้วก็ทำการเทียบค่า β-mannanase activity ที่สูงที่สุดให้เป็นร้อยละ 100 และนำค่าอื่นมาเทียบกับค่าที่สูงที่สุดก็จะได้ค่าrelative activity




**ภาพที่ 4.3.1** แสดงการเทียบมาตรฐานของน้ำตาล mannose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ข้อมูลผลการทดลอง

ผลตารางข้อมูลจากการทดลองที่ 4.3 การศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ β-mannanase ของเชื้อที่คัดเลือกได้

**ตารางที่ 4.3.1** แสดงการหาค่าน้ำตาล mannose การหาค่า β-mannanase activity และค่า relative activity

| เชื้อที่ | ความเจือจาง | mg mannose(mg/ml) | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | relative activity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | |
| TN-1 | 1:40 | 0.060 | 0.046 | 0.039 | 24.11 | 18.34 | 15.54 | 19.33 | 90.5 |
| TN-2 | 1:40 | 0.029 | 0.032 | 0.026 | 11.43 | 12.91 | 10.40 | 11.58 | 54.2 |
| TN-3 | 1:10 | 0.027 | 0.029 | 0.027 | 10.69 | 11.54 | 10.86 | 11.03 | 51.6 |
| TN-4 | 1:10 | 0.028 | 0.027 | 0.027 | 11.37 | 10.74 | 10.86 | 10.99 | 51.4 |
| TN-5 | 1:10 | 0.034 | 0.035 | 0.032 | 13.54 | 14.00 | 12.97 | 13.50 | 63.2 |
| TN-6 | 1:40 | 0.067 | 0.044 | 0.049 | 26.86 | 17.54 | 19.71 | 21.37 | 100.0 |
| TN-7 | 1:40 | 0.042 | 0.040 | 0.039 | 16.97 | 15.89 | 15.60 | 16.15 | 75.6 |
| TN-8 | 1:40 | 0.034 | 0.029 | 0.034 | 13.43 | 11.54 | 13.43 | 12.80 | 59.9 |
| TN-9 | 1:10 | 0.029 | 0.030 | 0.026 | 11.60 | 12.11 | 10.46 | 11.39 | 53.3 |
| TN-10 | 1:10 | 0.037 | 0.027 | 0.025 | 14.80 | 10.69 | 10.06 | 11.85 | 55.4 |
| TN-11 | 1:10 | 0.016 | 0.011 | 0.013 | 6.29 | 4.29 | 5.37 | 5.31 | 24.9 |
| TN-12 | 1:40 | 0.004 | 0.012 | 0.013 | 1.71 | 4.80 | 5.37 | 3.96 | 18.5 |
| TN-13 | 1:10 | 0.040 | 0.019 | 0.019 | 15.83 | 7.54 | 7.66 | 10.34 | 48.4 |
| TN-14 | 1:40 | 0.018 | 0.061 | 0.012 | 7.31 | 24.57 | 4.86 | 12.25 | 57.3 |
| TN-15 | 1:10 | 0.013 | 0.015 | 0.018 | 5.14 | 6.00 | 7.14 | 6.10 | 28.5 |
| TN-16 | 1:10 | 0.016 | 0.012 | 0.016 | 6.29 | 4.80 | 6.23 | 5.77 | 27.0 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลข้อมูลของการทดลองที่ 4.4 ผลการศึกษาความสำคัญของระยะเวลากับการผลิต β-mannanase และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของเชื้อรหัส TN-6

**ตารางที่ 4.4.1** ตารางแสดงเวลา ค่าrelative activity ค่าเฉลี่ย β-mannanase activity และพีเอช

| เวลา (ชม.) | ความเจือจาง | พีเอช | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | relative activity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | |
| 0 | 1:20 | 5.55 | 5.54 | 5.54 | 5.54 | 3.49 | 4.49 | 3.77 | 3.91 | 100.0 |
| | | | | | | 3.94 | 3.54 | 3.29 | 3.59 | 91.7 |
| | | | | | | 3.54 | 4.11 | 3.83 | 3.83 | 97.8 |
| 24 | 1:40 | 6.73 | 6.55 | 6.60 | 6.63 | 16.97 | 11.43 | 19.03 | 15.81 | 100.0 |
| | | | | | | 12.29 | 17.14 | 16.00 | 15.14 | 95.8 |
| | | | | | | 11.37 | 15.77 | 13.43 | 13.52 | 85.5 |
| 48 | 1:50 | 7.50 | 7.40 | 7.52 | 7.47 | 18.43 | 16.93 | 26.86 | 20.74 | 100.0 |
| | | | | | | 15.43 | 16.14 | 14.21 | 15.26 | 73.6 |
| | | | | | | 12.43 | 13.86 | 12.79 | 13.02 | 62.8 |
| 72 | 1:60 | 7.43 | 7.41 | 7.40 | 7.41 | 23.74 | 20.40 | 21.69 | 21.94 | 100.0 |
| | | | | | | 20.31 | 22.37 | 20.57 | 21.09 | 96.1 |
| | | | | | | 16.63 | 20.91 | 22.54 | 20.03 | 91.3 |
| 96 | 1:70 | 7.47 | 7.47 | 7.48 | 7.47 | 6.40 | 5.00 | 7.40 | 6.27 | 24.3 |
| | | | | | | 25.60 | 18.70 | 27.40 | 23.90 | 92.6 |
| | | | | | | 18.30 | 23.40 | 35.70 | 25.80 | 100.0 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลตารางข้อมูลการทดลองที่ 4.5 ผลศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

**ตารางที่ 4.5.1** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 35° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | activity |
| 3.5 | 0.007 | 0.015 | 0.006 | 0.007 | 3.57 | 7.71 | 3.00 | 3.36 | 4.69 | 21.2 |
| 4.0 | 0.010 | 0.045 | 0.032 | 0.027 | 5.21 | 22.29 | 15.86 | 13.64 | 17.26 | 78.0 |
| 4.5 | 0.009 | 0.050 | 0.036 | 0.028 | 4.50 | 25.07 | 18.14 | 14.14 | 19.12 | 86.3 |
| 5.0 | 0.007 | 0.056 | 0.038 | 0.038 | 3.57 | 28.14 | 19.07 | 19.21 | 22.14 | 100.0 |
| 5.5 | 0.006 | 0.064 | 0.030 | 0.032 | 2.86 | 32.00 | 14.79 | 15.86 | 20.88 | 94.3 |
| 6.0 | 0.009 | 0.039 | 0.039 | 0.036 | 4.43 | 19.29 | 19.36 | 18.21 | 18.95 | 85.6 |
| 6.5 | 0.004 | 0.031 | 0.034 | 0.037 | 1.93 | 15.71 | 17.21 | 18.43 | 17.12 | 77.3 |
| 7.0 | 0.006 | 0.040 | 0.031 | 0.036 | 2.86 | 19.79 | 15.36 | 18.07 | 17.74 | 80.1 |

**ตารางที่ 4.5.2** แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.1**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $4.69^{a}$ |
| 4.0 | $17.26^{b}$ |
| 4.5 | $19.12^{b}$ |
| 5.0 | $22.14^{b}$ |
| 5.5 | $20.88^{b}$ |
| 6.0 | $18.95^{b}$ |
| 6.5 | $17.12^{b}$ |
| 7.0 | $17.74^{b}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5.3** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ40° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | activity |
| 3.5 | 0.008 | 0.006 | 0.009 | 0.012 | 3.79 | 3.21 | 4.36 | 6.00 | 4.52 | 41.7 |
| 4.0 | 0.012 | 0.022 | 0.017 | 0.019 | 6.00 | 10.93 | 8.36 | 9.36 | 9.55 | 87.9 |
| 4.5 | 0.014 | 0.023 | 0.018 | 0.016 | 6.93 | 11.29 | 9.00 | 8.14 | 9.48 | 87.3 |
| 5.0 | 0.010 | 0.031 | 0.020 | 0.012 | 4.86 | 15.29 | 9.79 | 6.21 | 10.43 | 96.1 |
| 5.5 | 0.009 | 0.024 | 0.022 | 0.020 | 4.57 | 11.86 | 10.93 | 9.79 | 10.86 | 100.0 |
| 6.0 | 0.008 | 0.022 | 0.020 | 0.015 | 3.93 | 10.79 | 9.86 | 7.57 | 9.40 | 86.6 |
| 6.5 | 0.008 | 0.023 | 0.019 | 0.018 | 3.79 | 11.57 | 9.71 | 9.21 | 10.17 | 93.6 |
| 7.0 | 0.008 | 0.019 | 0.014 | 0.016 | 4.14 | 9.36 | 7.21 | 7.86 | 8.14 | 75.0 |

**ตารางที่ 4.5.4** แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.3**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $4.52^{a}$ |
| 4.0 | $9.55^{b}$ |
| 4.5 | $9.48^{b}$ |
| 5.0 | $10.43^{b}$ |
| 5.5 | $10.86^{b}$ |
| 6.0 | $9.40^{b}$ |
| 6.5 | $10.17^{b}$ |
| 7.0 | $8.14^{b}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5.5** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 45° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | activity |
| 3.5 | 0.006 | 0.005 | 0.006 | 0.009 | 3.00 | 2.50 | 3.07 | 4.43 | 3.33 | 37.9 |
| 4.0 | 0.005 | 0.017 | 0.018 | 0.014 | 2.43 | 8.50 | 9.21 | 6.86 | 8.19 | 93.2 |
| 4.5 | 0.003 | 0.014 | 0.016 | 0.018 | 1.43 | 7.00 | 8.21 | 9.21 | 8.14 | 92.7 |
| 5.0 | 0.007 | 0.020 | 0.014 | 0.016 | 3.57 | 10.14 | 6.79 | 8.21 | 8.38 | 95.4 |
| 5.5 | 0.005 | 0.021 | 0.018 | 0.012 | 2.29 | 10.64 | 9.21 | 5.79 | 8.55 | 97.3 |
| 6.0 | 0.002 | 0.023 | 0.014 | 0.016 | 0.93 | 11.50 | 6.93 | 7.93 | 8.79 | 100.0 |
| 6.5 | 0.000 | 0.021 | 0.015 | 0.010 | 0.21 | 10.43 | 7.43 | 5.07 | 7.64 | 87.0 |
| 7.0 | 0.004 | 0.020 | | | 2.21 | 10.21 | | | 10.21 | 116.3 |

**ตารางที่ 4.5.6** แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.5**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $3.33^{a}$ |
| 4.0 | $8.19^{b}$ |
| 4.5 | $8.14^{b}$ |
| 5.0 | $8.38^{b}$ |
| 5.5 | $8.55^{b}$ |
| 6.0 | $8.79^{b}$ |
| 6.5 | $7.64^{b}$ |
| 7.0 | $3.40^{b}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5.7** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ50° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | activity |
| 3.5 | 0.007 | 0.006 | 0.013 | 0.010 | 3.29 | 2.79 | 6.71 | 5.00 | 4.83 | 42.7 |
| 4.0 | 0.006 | 0.015 | 0.015 | 0.014 | 2.79 | 7.57 | 7.64 | 7.07 | 7.43 | 65.7 |
| 4.5 | 0.008 | 0.017 | 0.025 | 0.020 | 4.07 | 8.29 | 12.50 | 10.00 | 10.26 | 90.7 |
| 5.0 | 0.008 | 0.023 | 0.022 | 0.019 | 4.07 | 11.43 | 10.93 | 9.64 | 10.67 | 94.3 |
| 5.5 | 0.009 | 0.022 | 0.022 | 0.024 | 4.57 | 10.93 | 10.93 | 12.07 | 11.31 | 100.0 |
| 6.0 | 0.009 | 0.018 | 0.025 | 0.022 | 4.64 | 8.93 | 12.29 | 11.00 | 10.74 | 94.9 |
| 6.5 | 0.006 | 0.025 | 0.016 | | 3.00 | 12.36 | 8.00 | | 10.18 | 90.0 |
| 7.0 | 0.008 | 0.021 | 0.014 | 0.020 | 4.21 | 10.64 | 6.93 | 9.79 | 9.12 | 80.6 |

**ตารางที่ 4.5.8** แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.7**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $4.83^{a}$ |
| 4.0 | $7.43^{b}$ |
| 4.5 | $10.26^{b}$ |
| 5.0 | $10.67^{b}$ |
| 5.5 | $11.31^{b}$ |
| 6.0 | $10.74^{b}$ |
| 6.5 | $6.79^{a}$ |
| 7.0 | $9.12^{a}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5.9** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 55° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative activity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | |
| 3.5 | 0.007 | 0.005 | 0.003 | 0.007 | 3.50 | 2.71 | 1.43 | 3.43 | 2.52 | 31.6 |
| 4.0 | 0.003 | 0.011 | 0.009 | 0.009 | 1.64 | 5.43 | 4.36 | 4.43 | 4.74 | 59.4 |
| 4.5 | 0.007 | 0.013 | 0.008 | 0.012 | 3.36 | 6.29 | 4.14 | 6.21 | 5.55 | 69.6 |
| 5.0 | 0.004 | 0.016 | 0.017 | 0.015 | 2.14 | 7.79 | 8.64 | 7.50 | 7.98 | 100.0 |
| 5.5 | 0.002 | 0.016 | 0.013 | 0.018 | 1.14 | 7.86 | 6.64 | 8.86 | 7.79 | 97.6 |
| 6.0 | 0.006 | 0.011 | 0.016 | 0.014 | 2.93 | 5.64 | 7.93 | 7.07 | 6.88 | 86.3 |
| 6.5 | 0.002 | 0.015 | 0.015 | 0.008 | 1.14 | 7.64 | 7.43 | 4.21 | 6.43 | 80.6 |
| 7.0 | 0.001 | 0.010 | 0.009 | 0.011 | 0.71 | 4.86 | 4.57 | 5.50 | 4.98 | 62.4 |

**ตารางที่ 4.5.10**แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.9**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $2.52^{a}$ |
| 4.0 | $4.74^{b}$ |
| 4.5 | $5.55^{b}$ |
| 5.0 | $7.98^{c}$ |
| 5.5 | $7.79^{c}$ |
| 6.0 | $6.88^{c}$ |
| 6.5 | $6.43^{bc}$ |
| 7.0 | $4.98^{b}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5.11** ตารางแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชและ β-mannanase activity ในน้ำหมักที่ได้จากเชื้อ TN-6 ที่อุณหภูมิ 60° ซ

| พีเอช | mg mannose(mg/ml) | | | | β-mannanase activity(Unit/ml) | | | | | relative activity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | blank | 1 | 2 | 3 | blank | 1 | 2 | 3 | เฉลี่ย | |
| 3.5 | 0.000 | 0.003 | 0.004 | 0.004 | 0.14 | 1.29 | 1.86 | 2.21 | 1.79 | 28.1 |
| 4.0 | 0.001 | 0.007 | 0.004 | 0.005 | 0.64 | 3.57 | 2.21 | 2.29 | 2.69 | 42.3 |
| 4.5 | 0.003 | 0.011 | 0.008 | 0.013 | 1.71 | 5.29 | 3.93 | 6.43 | 5.21 | 82.0 |
| 5.0 | 0.001 | 0.008 | 0.009 | 0.020 | 0.29 | 4.14 | 4.71 | 10.21 | 6.36 | 100.0 |
| 5.5 | 0.001 | 0.013 | 0.009 | 0.016 | 0.57 | 6.50 | 4.50 | 8.07 | 6.36 | 100.0 |
| 6.0 | 0.000 | 0.007 | 0.007 | 0.010 | 0.21 | 3.36 | 3.71 | 5.14 | 4.07 | 64.0 |
| 6.5 | 0.001 | 0.003 | 0.003 | 0.010 | 0.57 | 1.71 | 1.64 | 5.07 | 2.81 | 44.2 |
| 7.0 | 0.001 | 0.007 | 0.005 | 0.015 | 0.36 | 3.71 | 2.57 | 7.36 | 4.55 | 71.5 |

**ตารางที่ 4.5.12** แสดงค่าเฉลี่ยของβ-mannanase activity ที่พีเอชแตกต่างกันที่ได้จากตารางที่ 4.5.11**

| pH | β-mannanase activity(Unit/ml) |
|---|---|
| 3.5 | $1.79^{a}$ |
| 4.0 | $2.69^{ab}$ |
| 4.5 | $5.21^{bc}$ |
| 5.0 | $6.36^{c}$ |
| 5.5 | $6.36^{c}$ |
| 6.0 | $4.07^{ac}$ |
| 6.5 | $2.81^{ac}$ |
| 7.0 | $4.55^{ac}$ |

หมายเหตุ

**ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณหา β-mannanase activity

ผลิตเอนไซม์ที่เวลา 72 ชั่วโมง

1 หน่วย คือปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา การเปลี่ยน β-mannan ให้เป็นน้ำตาล mannose 1 มิลลิกรัม ในสภาวะที่ 35 °ซ พีเอช 5

Reaction time = 30 นาที

ความเจือจาง = 50 เท่า

ปริมาณเอนไซม์ที่ปิเปต = 1 มิลลิลิตร

ค่าการดูดกลืนแสง($A_{520}$) ครั้งที่ 1 = 0.394

1) การคำนวณค่าปริมาณ mannose จากกราฟมาตราฐาน = 0.056 มิลลิกรัม

2) เจือจางเอนไซม์ 10 เท่า ดังนั้นปริมาณ mannose ทั้งหมด = 0.563 มิลลิกรัม

3) Reaction time 30 นาที ดังนั้นถ้า 1 นาที จะมีน้ำตาล mannose เกิดขึ้น = 0.938 มิลลิกรัมต่อนาที

ดังนั้น Activity ของ enzyme = 0.938 หน่วยต่อมิลลิลิตร

ทำการคำนวณครั้งที่ 2 และ 3

$$\text{Activity ของ enzyme เฉลี่ย} = \frac{0.938 + 0.636 + 0.640}{3} \text{ หน่วยต่อมิลลิลิตร}$$

$$= 0.738 \text{ หน่วยต่อมิลลิลิตร}$$

4) คำนวณหา Relative activity โดยให้ตัวอย่างที่มี activity สูงสุดเท่ากับร้อยละ 100

มีค่า activity = 0.738 หน่วยต่อมิลลิลิตร สูงสุดเท่ากับร้อยละ 100

ที่อุณหภูมิ 35 °ซ พีเอช 5.5 มีค่า activity = 0.696 หน่วยต่อมิลลิลิตร

$$\text{Relative activity} = \frac{0.696 \times 100}{0.738}$$

$$= 94.3\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้