18949

การผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติคจากกากถั่วเหลือง

(Production of Probiotic feed from soybean meal)

T096817

นางสาว วรินญา จารุทรรศน์พิมล รหัสนักศึกษา 42040166

นางสาว วิริยา นันทวุฒิกุล รหัสนักศึกษา 42040478

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาศาสตรบัณฑิต

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2545

ปพ.
วว28ก
ส5A5

สชหมู่.....
เลขทะเบียน.....T96817
วัน.เดือน.ปี.....

ลิขสิทธิ์เป็นของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติคจากกากถั่วเหลือง

(Production of Probiotic feed from soybean meal)

โดย

นางสาว วรินญา จารุทรรศน์พิมล รหัสนักศึกษา 42040166

นางสาว วิริยา นันทวุฒิกุล รหัสนักศึกษา 42040478

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

( )

คณบดีโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วรินญา จารุทรรศน์พิมล และ วิริยา นันทวุฒิกุล 2545 : เรื่อง การผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติค
จากกากถั่วเหลือง (Productoin of Probiotic feed from soybean meal)
โครงการคณะอุตสาหกรรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

จากการทดลองหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติตร่วมกับบาซิลลัสโดยเปรียบเทียบการเตรียมกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อน 2 แบบคือ นึ่ง 100°ซ .นาน 30 นาที และ Autoclave 121°ซ. นาน 15 นาที และใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติคร่วมกับบาซิลลัส B 522 และแบคทีเรียแลคติคร่วมกับบาซิลลัส B 525 โดยใช้ระยะเวลาหมัก 30 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ,ปริมาณแบคทีเรียแลคติคและแบคทีเรียบาซิลลัส ที่ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ชั่วโมง แล้วนำถั่วเหลืองที่หมัก 30 ชั่วโมง ไปอบแห้งที่ 55°ซ นาน 24 ชั่วโมง วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอส ปริมาณแบคทีเรียแลคติคและบาซิลลัส พบว่าการเตรียมกากถั่วเหลืองโดยทั้งสองวิธี และการใช้แบคทีเรียบาซิลลัสที่ต่างกัน มีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักเป็นไปในทางเดียวกันคือแบคทีเรียแลคติคและบาซิลลัสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น โดยมีแบคทีเรียแลคติคประมาณ 5 , 8 , 9 , 9 และ 9 Log cfu/g และบาซิลลัสประมาณ 5 , 8 , 9 , 9 และ 9 Log cfu/g ที่ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 , 30 ชั่วโมง ตามลำดับ สำหรับลักษณะทางกายภาพ พบว่าเริ่มต้นกากถั่วเหลืองมีสีน้ำตาลอ่อน,ร่วนซุย และเมื่อระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้นสีไม่เปลี่ยนแปลง แต่เกาะกันเป็นก้อนและมีกลิ่นหมักเพิ่มขึ้น จากการนำถั่วเหลืองที่หมัก 30 ชั่วโมง ไปอบแห้งแล้วตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติคและบาซิลลัสพบว่า อยู่ในช่วง 5 - 6 Log cfu/g และ 6 - 7 Log cfu/g ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ พบว่ามีปริมาณเอนไซม์โปรติเอส ประมาณ 2.8 - 3.9 หน่วย/กรัม และอะมัยเลส มีปริมาณที่ต่ำมาก

วรินญา จารุทรรศน์พิมล
วิริยา นันทวุฒิกุล

....

ลายมือนักศึกษา (อาจารย์ นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา) วัน เดือน ปี

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่ได้สละเวลาคอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา ความรู้ และข้อเสนอแนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้เป็นอย่างยิ่งรวมทั้งได้ตรวจแก้ไขรูปเล่มปัญหาพิเศษจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ และ ผศ.อดิศร เสวตวิวัฒน์ และอาจารย์คณะกรรมการทุกท่าน ที่คอยให้นำแนะนะซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้เป็นอย่างยิ่ง

ขอบคุณเพื่อนๆ ทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจและช่วยทำให้การจัดทำปัญหาพิเศษครั้งนี้มีความสมบูรณ์ นอกจากนี้ต้องขอขอบคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์สารเคมีและเครื่องมือต่างๆ และบุคคลที่สำคัญที่สุดที่ผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงคือคุณพ่อและคุณแม่ของผู้จัดทำ ซึ่งคอยให้กำลังใจ และให้การสนับสนุนในด้านต่างๆ ด้วยดีมาโดยตลอด ขอขอบคุณ ณ โอกาสนี้

วรินญา จารุทรรศน์พิมล

(นางสาว วรินญา จารุทรรศน์พิมล)

วิริยา นันทวุฒิกุล

(นางสาว วิริยา นันทวุฒิกุล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	
2.1 กากถั่วเหลือง	2
2.2 ชนิดของผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใช้ในสัตว์	4
2.3 Bacillus subtilis	6
2.4 Lactic acid bacteria	7
2.5 อะมัยเลส	8
2.6 โปรติเอส	9
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	
3.1 สารเคมี	13
3.2 เครื่องมือใช้เตรียมวัตถุดิบ	13
3.3 วัตถุดิบ	14
3.4 เชื้อจุลินทรีย์	15
3.5 วิธีการทดลอง	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์	
4.1 การศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์	19
4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลืองหมัก	23
4.3 การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ ช.ม.ที่ 30 เมื่ออบและบดแล้ว(ผลิตภัณฑ์)	28
4.4 ปริมาณเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส ของผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองบดอบแห้งแล้ว	31
4.5 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองบดอบแห้งแล้ว	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 34
เอกสารอ้างอิง 35
ภาคผนวก
ก ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* และ*Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลืองหมัก
ข การคำนวณทางสถิติ 42
ค วิธีวิเคราะห์ทางเคมี 44
ค ผลการวิเคราะห์เอนไซม์โปรติเอส และ อะมัยเลส 49
ประวัติผู้เขียน 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง	2
2.2 แสดงปริมาณกรดอะมิโนของกากถั่วเหลือง	3
2.3 แสดงลักษณะของอะมัยโลสและอะมัยโลเพคติน	9
3.1 แสดงการทดลองที่ทำการศึกษา	16
4.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลืองหมัก โดยวิธีการให้ความร้อนแบบนึ่ง ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	21
4.2 แสดงลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลืองหมัก โดยวิธีการให้ความร้อนแบบ Autoclave ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ	22
4.3 แสดงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* ของกากถั่วเหลืองหมักที่ ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ช.ม.	23
4.4 แสดงปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลืองหมักที่ ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ช.ม.	23
4.5 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว	28
4.6 แสดงค่าทางสถิติในแต่ละการทดลองของเชื้อ *Bacillus subtilis*	30
4.7 แสดงค่าทางสถิติในแต่ละการทดลองของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*	30
4.8 แสดงปริมาณเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอสที่ได้จากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง ที่บดอบแห้งแล้ว	31
4.9 แสดงลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
3.1 แสดงขั้นตอนการศึกษาการผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติค	18
4.1 แสดงกากถั่วเหลือง ที่ปรับความชื้นแล้ว	19
4.2 กากถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนแบบนึ่ง 100 องศาเซลเซียส 60 นาที ที่เติมกล้าเชื้อและแป้งข้าวจ้าวแล้ว	20
4.3 กากถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนแบบ Autoclave 121 องศาเซลเซียส15 นาที ที่เติมกล้าเชื้อและแป้งข้าวจ้าวแล้ว	20
4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis*(B 522) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลือง ที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบนึ่ง	24
4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis*(B 525) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลือง ที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบนึ่ง	25
4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis*(B 522) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลือง ที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบ Autoclave	26
4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis*(B 525) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลือง ที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบ Autoclave	27
4.8 ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว	29
4.9 ปริมาณเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว	31
4.10 กากถั่วเหลืองหมักอบแห้งที่บดแล้วโดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 °ซ นาน 60 นาที เติมกล้าเชื้อ*B. Subtilis*(B 522)+*P. pentosaceus*(ก) และ *B. Subtilis*(B 525)+*P. pentosaceus*(ข)	33
4.11 กากถั่วเหลืองหมักอบแห้งที่บดแล้วโดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 121° ซ นาน 15 นาที เติมกล้าเชื้อ*B. Subtilis*(B 522)+*P. pentosaceus*(ก) และ *B. Subtilis*(B 525)+*P. pentosaceus*(ข)	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

อาหารสัตว์โปรไบโอติคนั้นเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสัตว์ โดยจุลินทรีย์โปรไบโอติคจะไปช่วยในการย่อยในลำไส้ของสัตว์ทำให้สัตว์สามารถดูดซึมสารอาหารได้ดีขึ้น ซึ่งจะส่งผลทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้เร็วขึ้นนั้นเอง แต่ในปัจจุบันอาหารสัตว์โปรไบโอติคมีการนำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งมีราคาแพง ดังนั้นจึงมีความคิดที่จะใช้กากถั่วเหลืองซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากโรงงานสกัดน้ำมันมาผลิตเป็นอาหารสัตว์โปรไบโอติค เพื่อทดแทนการนำเข้าจากต่างประเทศและเพิ่มมูลค่าแก่กากถั่วเหลือง โดยนำกากถั่วเหลืองมาหมักร่วมกับเชื้อแบคทีเรียแลคติค และบาซิลลัส เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ที่จะใช้กากถั่วเหลืองมาผลิตเป็นอาหารสัตว์โปรไบโอติค

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติคจากกากถั่วเหลือง โดยใช้แบคทีเรียบาซิลลัส ร่วมกับแบคทีเรียแลคติค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 กากถั่วเหลือง(Soybean meal)

กากถั่วเหลือง (Soybean meal) เป็นผลพลอยได้จากโรงงานสกัดน้ำมันถั่วเหลือง มี 2 ชนิด คือ กากถั่วเหลืองที่ได้จากขบวนการอัดน้ำมันและกากถั่วเหลือง ที่ได้จากขบวนการสกัดน้ำมันด้วยสารเคมี

แหล่งโปรตีนจากพืชส่วนใหญ่คือกากของเมล็ดพืชน้ำมัน (Oil seeds) ที่ผ่านกระบวนการแยกน้ำมันออกไปแล้ว กากที่เหลือจะมีโปรตีนสูงขึ้น จึงนำมาเป็นแหล่งเสริมโปรตีนให้กับสัตว์ กากที่ได้จากการอัดน้ำมัน (Pressd meal) ได้จากกระบวนการบีบ-อัดให้น้ำมันออกมา (Mechanical extraction หรือ Pressing) กากจึงออกมาเป็นก้อน (Cake) นำกากไปบด (Grinding) หรือบี้หรือทุบให้แตก (Crumble) ส่วนกากที่ได้จากการสกัดน้ำมัน (Solvent extraction) เป็นการใช้สารเคมีสกัด (Chemical extraction) จะออกมาเป็นแผ่นแบบบาง (Flake) แล้วนำไปบดให้ละเอียดอีกครั้ง

ส่วนประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง นับว่ายังมีคุณค่าทางอาหาร กล่าวคือ มีคุณภาพโปรตีนดี รองจากปลาป่นมี คือโปรตีนประมาณ 42-48 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับขบวนการสกัดน้ำมันมีไขมันอยู่ประมาณ 1-4 เปอร์เซ็นต์ มีระดับธาตุแคลเซียม และฟอสฟอรัสต่ำ

ตารางที่ 2.1 แสดงส่วนประกอบทางเคมีของกากถั่วเหลือง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
ความชื้น	10
โปรตีน	44
ไขมัน	1
เยื่อใย	7.0
เถ้า	6.0
แคลเซียม	0.25
ฟอสฟอรัสใช้ประโยชน์ได้	0.20

ที่มา : http://www.dld.go.th/inform/ksoy.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงปริมาณกรดอะมิโนของกากถั่วเหลือง

กรดอะมิโน	ปริมาณ (%)
ไลซีน	2.73
เมทไธโอนีน	0.59
เมทไธโอนีน + ซีสตีน	1.26
ทริปโตเฟน	0.59
ทรีโอนีน	1.72
ไอโซลูซีน	2.17
อาร์จินีน	3.18
ลูซีน	3.39
เฟนิลอะลานีน+ไทโรซีน	3.82
อิสติดีน	1.11
เวลีน	2.24
ไกลซีน	1.83

ที่มา : http://www.dld.go.th/inform/ksoy.html

ในกากถั่วเหลืองมีสารยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญ คือ Kunitz inhibitor ประมาณ 1.4 เปอร์เซ็นต์ และ Bowman-Birk inhibitor ประมาณ 0.6 เปอร์เซ็นต์ ชนิดและปฏิกริยาของสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินนี้จะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของถั่วเหลือง (Frattali และ Steiner,1968) แต่ถั่วเหลืองเกือบทุกสายพันธุ์จะพบ Kunitz inhibitor กากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนไม่เพียงพอโดยเฉพาะกากถั่วเหลืองอัดน้ำมันจะยังมีสารยับยั้งทริปซิน หลงเหลืออยู่ในระดับสูง มีผลทำให้การย่อยได้ลดลงโดยเฉพาะในสัตว์เล็ก จะแสดงอาการโตช้าลงกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนเกินไป จะมีสีน้ำตาลคล้ำ มีกลิ่นเหม็นไหม้ทำให้การย่อยได้ของไลซีนลดลง ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะในสัตว์เล็ก

ข้อแนะนำในการใช้

การใช้กากถั่วเหลืองในระดับสูง จะต้องเสริมธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และไวตามินบีรวม ให้เพียงพอ การเลือกซื้อควรสังเกตดูว่า กากถั่วเหลืองนั้นไม่ดิบหรือสุกจนเกินไป อาจสังเกตง่าย ๆ โดยดูจากสี หรือโดยการชิม เช่น กากถั่วเหลืองที่สุกไม่ถึงที่ โดยเฉพาะกากถั่วเหลืองแบบอัดน้ำมันถ้าชิมดูจะมีรสและกลิ่นเหม็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขียว เหมือนถั่วเหลืองดิบหรือถ้าสุกเกินไป กากถั่วเหลืองจะมีสีน้ำตาลไหม้ ซึ่งทำให้คุณภาพโปรตีนต่ำลง ในสัตว์เล็กควรเลือกใช้กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน จะปลอดภัยกว่า การใช้กากถั่วเหลืองอัดน้ำมัน

การให้ความร้อนแก่ถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองโดยวิธีการต่างๆกันเป็นวิธีการทำลายสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน และยังเพิ่มคุณค่าทางอาหารอีกด้วย ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ ระยะเวลา ความชื้นและขนาดของถั่วเหลือง Rackis (1966) รายงานว่า การให้ความร้อนขึ้นแก่ถั่วเหลือง 30 นาที หรือการให้ความร้อนภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 ถึง 20 นาที สามารถทำลายสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินได้มากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ และประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจะสูงขึ้น นอกจากนี้การให้ความร้อนแก่ถั่วเหลือง ที่มีความชื้น 19 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้โปรตีนมีคุณภาพมากกว่าถั่วเหลืองที่มีความชื้น 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการนึ่งถั่วที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สามารถทำลายสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินและทำให้โปรตีนมีคุณภาพสูงสุด Borchers และ Manage (1972) รายงานว่า การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 146 องศาเซลเซียส แก่เมล็ดถั่วเหลืองใน dielectric heater เป็นเวลา 2 นาที จะมีปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินเหลืออยู่ 61 หน่วยต่อกรัม ในขณะที่การนึ่งถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินจะถูกทำลายหมด

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากถั่วเหลือง

ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับเป็นอย่างดีในประเทศไทย และประเทศแถบเอเชีย มีการพัฒนาเทคนิคการผลิต การผลิตเป็นอาหารหมักนั้นเป็นส่วนใหญ่เป็นขั้นตอนการทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งมีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา โดยอาจใช้เชื้อชนิดใดชนิดหนึ่ง สองชนิด หรือทั้งสามชนิดก็ได้ ซึ่งชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ก็เป็นตัวกำหนดชนิดของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ต้องมีการควบคุมให้เป็นไปตามต้องการให้มีจุลินทรีย์ชนิดใดในผลิตภัณฑ์ และกำจัดจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ต้องการ หรือจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ จากการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ระยะหนึ่งก็จะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี กลิ่น รส เฉพาะ ปัจจุบันประเทศไทยมีการใช้ถั่วเหลืองเป็นอาหารหมัก โดยเฉพาะในลักษณะที่เป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มีประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณถั่วเหลืองที่ผลิตได้ภายในประเทศ

คุณค่าทางโภชนาการของอาหารหมักจากถั่วเหลือง สารอาหารโปรตีนยังคงเป็นสารอาหารหลัก เนื่องจากถั่วเหลืองเป็นแหล่งของสารอาหารโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และวิตามิน แต่ชนิดของโปรตีนจะอยู่ในลักษณะที่ถูกย่อยแล้วเป็นขนาดโมเลกุลที่เล็กลง นั่นคือ อยู่ในรูปของกรดอะมิโนมากขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์จากการทำงานจากจุลินทรีย์ ปริมาณของกรดอะมิโนบางชนิด เช่นกลูตามิค จะทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์ดีขึ้น ขณะเดียวกันกรดไขมัน และน้ำตาลในถั่วเหลืองจะถูกย่อยสลายและเปลี่ยนแปลงเป็นสารทำให้กลิ่นหอมสีเหลืองทองหรือสีน้ำตาล ผลจากการย่อยสารอาหารที่มีถั่วเหลืองโดยจุลินทรีย์จะทำให้สารอาหารส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ถูกย่อยและดูดซึมได้ง่ายขึ้น และนอกจากนี้ยังมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์บางชนิดผลิตสารอาหารประเภทวิตามินเพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากถั่วเหลืองบางชนิดยังมีการเติมธัญพืช ซึ่งขาดไลซีน แต่มีเมทไธโอนีน และทริปโตเฟนเพียงพอในขณะที่ในถั่วมีไลซีนมาก แต่ขาดเมทไธโอนีน และทริปโตเฟน ดังนั้นเมื่อร่วมกันก็ทำให้ผลิตภัณฑ์นี้มีคุณค่าของโปรตีนสมบูรณ์เทียบเท่าเนื้อสัตว์ (อรอนงค์, 2524)

ในการหมักถั่วเหลืองเพื่อนำไปใช้เป็นอาหารเลี้ยงลูกสุกรนั้นจะต้องทำการนึ่งถั่วเหลืองให้สุก เพื่อกำจัดสารยับยั้งทริปซินให้หมดไป และนอกจากนี้ยังทำให้กากถั่วเหลืองถูกย่อยสลายได้ง่ายขึ้นและเป็นการป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์ พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการให้ความร้อนแก่ถั่วเหลือง คือ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 นาที ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำเป็น 14.5 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำมาหมักด้วยเชื้อ *B.subtilis* (B 73) ปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำจะเพิ่มสูงสุดเป็น 24.0 เปอร์เซ็นต์ เมื่อระยะเวลาการหมักเป็น 30 ชั่วโมง (ปัทมาวดี, 2535)

2.2 ชนิดของผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใช้ในสัตว์

ในที่นี้จะกล่าวถึงผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่นำมาใช้เป็นปัจจัยในการเลี้ยงปศุสัตว์ที่สำคัญและนิยมเท่านั้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ใช้ทดแทนสารปฏิชีวนะและเคมีบำบัดเดิมที่เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต (Growth promotant) ใช้ในการป้องกันและขจัดจุลินทรีย์ตัวก่อโรคในตัวสัตว์ และในสิ่งแวดล้อม และชนิดที่ใช้ในการช่วยย่อยสลายสิ่งปฏิกูลมูลสัตว์ในฟาร์ม ในโรงเรียน เพื่อรักษาสมดุลย์และบรรเทาผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่นโปรไบโอติค น้ำย่อย กรดอินทรีย์ เอนไซม์ สมุนไพร จุลินทรีย์ย่อยสลายปฏิกูล และ อื่นๆ

สารเสริมชีวนะ (โปรไบโอติค)

มนุษย์มีแบคทีเรียที่ดีมีประโยชน์อยู่กับร่างกายมาตั้งแต่เกิด แต่เนื่องจากสารพิษที่ปนเปื้อนในอาหารและยาปฏิชีวนะต่างๆ ไปรบกวนสมดุลของแบคทีเรียในร่างกาย ซึ่งนำไปสู่ปัญหาสุขภาพหลายอย่าง เช่น ภูมิแพ้ คอเลสเทอรอลสูง ภูมิต้านทานโรคต่ำ และท้องผูก เป็นต้น คำว่า โปรไบโอติก คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ (host) โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย แบคทีเรียที่ดีในร่างกายซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้เรียกว่า แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ แลคโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลลัส (Lactobacillus acidophilus) เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้เป็น โปรไบโอติก อาหารที่แบคทีเรียเหล่านี้ชอบ คือ อาหารประเภทเส้นใย จากผัก ผลไม้ เรียกอาหารพวกนี้ว่า พรีไบโอติก (prebiotic) แลคติกแอซิดแบคทีเรียนี้จะอาศัยอยู่ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ของเราตั้งแต่เกิด ทำหน้าที่ช่วยย่อยอาหารและผลิตอาหารที่ดีมีประโยชน์และวิตามินต่างๆ นอกจากนั้นยังมีประโยชน์อื่นๆ อีกหลายประการ เช่น ช่วยลดสารก่อมะเร็งบางชนิด ช่วยลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือด เป็นต้น ปัญหาสุขภาพบางประการ เช่น ท้องผูก เบื่ออาหาร ภูมิต้านทานโรคต่ำ คอเลสเทอรอลในเลือดสูง สามารถแก้ปัญหาเหล่านี้ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง่ายๆ โดยการเติมแบคทีเรียที่มีประโยชน์ให้ร่างกายเพื่อให้เกิดสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ เช่น การรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียจำนวนมากพอ และมีหลายสายพันธุ์

โปรไบโอติกมีรากศัพท์มาจากภาษากรีกมีความหมายว่า"เพื่อชีวิต"(for life)ความหมายของโปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ หรือกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อคนหรือสัตว์บริโภคเข้าไปแล้วสามารถดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารแล้วก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติกจะทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมทางชีวภาพทำให้เกิดสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งลดปริมาณเชื้อที่เป็นโทษและก่อให้เกิดโรค เพิ่มปริมาณเชื้อที่มีประโยชน์ให้มีปริมาณที่มากขึ้น แนวคิดการใช้โปรไบโอติกเริ่มจากในคนที่มีการบริโภคนมเปรี้ยว หรือโยเกิรต์แล้วพัฒนามาสู่การใช้ในการเลี้ยงสัตว์ได้แก่ไก่ หมู วัว ซึ่งส่งผลให้สัตว์ที่เลี้ยงมีสุขภาพดีขึ้นไม่ต้องใช้ยาปฏิชีวนะในการป้องกันการเกิดโรค

ทั่วไปนิยมใช้ทับศัพท์ในชื่อโปรไบโอติค (Probiotic) เตรียมมาจากจุลินทรีย์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ (Live microorganism) ในหลักการที่นำเอาจุลินทรีย์ที่มีคุณประโยชน์มาให้สัตว์กิน โดยมีจุดประสงค์หลักในการป้องกันและขจัด (CE) , จุลินทรีย์ตัวก่อโรคในร่างกายสัตว์เป็นกระบวนการที่นักวิชาการบางกลุ่มนิยม เรียกว่า เป็น ปรากฏการณ์ของเนอร์มิ (Nurmi's Phenomena) ในความเป็นจริงกระบวนการนี้ในวงการแพทย์ได้รู้มานานแล้วนับตั้งแต่ก่อนยุคคริสกาล จากการนำเอาจุลินทรีย์พวกที่สร้างกรดแลคติค หรือกล่าวให้ชัดเจน คือ เอานมเปรี้ยวไปรักษาอาการท้องเสียในคน แต่ผู้ที่ทดลองและบันทึกไว้คือการทดลองผลของ CE ต่อเชื้อ Salmonella และ E.coli ในไก่โดย Weinek และคณะ (1982) ได้กล่าวถึงประวัติการนำเอาสารเสริมชีวนะหรือกลุ่มของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติคมาทดลองและใช้ในการเลี้ยงปศุสัตว์ ว่ามีการเริ่มต้นมาประมาณ 20 ปีก่อนหน้านี้เท่านั้น นอกจากการเรียกชื่อโปรไบโอติค (Probiotic) แล้ว นักวิชาการทางสัตว์ยังเรียกอีกว่าเป็น จุลินทรีย์สิ่งเติมในอาหาร (Microbial additive) ก็เป็นอีกชื่อหนึ่งที่นิยมเรียกกัน การเตรียมผลิตภัณฑ์เป็นสินค้าก็มีหลากหลาย อาจจำแนกเป็นกลุ่มหรือชนิดตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เตรียมมา เพื่อให้เข้าใจในผลิตภัณฑ์หรือสินค้า เริ่มตั้งแต่การใช้จุลินทรีย์ชนิดเดียว (Single microbial additive) ชนิดรวมกันตั้งแต่สองชนิดขึ้นไป (Combind microbial additive) ชนิดที่มีการเติมเกลือแร่ (Multi combind microbial additive) (เกรียงศักดิ์, 2534 อ้างอิงในนงเยาว์,2517)

2.3 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเป็นรูปท่อน และสามารถสร้างสปอร์ได้ ในการทดลองหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อ Bacillus subtilis ที่อุณหภูมิห้อง 33-35 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเวลาการหมักผ่านไป ถั่วหมักจะมีลักษณะเปียกลื่น เป็นมัน มียางเหนียวใสปกคลุมและมีกลิ่นแอมโมเนีย เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีบางประการของถั่วหมัก พบว่าปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้จะเพิ่มสูงสุดเป็น 36.1 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลาของการหมัก 24 ชั่วโมง ซึ่งโปรตีนที่ละลายน้ำได้ของถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมักเป็น 9-10 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เพิ่มขึ้นสูงสุด1.9เปอร์เซ็นต์ กรดแลกติกที่60ชั่วโมง ส่วนพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และความชื้นจะเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น (วรรณดี, 2529 อ้างอิงในปัทมาวดี ,2535) พบว่าได้มีการนำ Bacillus subtilis ไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติค

ขณะที่เริ่มมีการเจริญถึงปลายระยะ logarithmic phase Bacillus subtilis จะสร้างเอนไซม์ปริมาณน้อย เมื่ออัตราการเพิ่มของเซลล์ลดลงจนถึงระยะ staionary phase อัตราการสร้างเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นในระดับสูง เนื่องจากเซลล์ใช้กรดนิวคลีอิคจำนวนมากในการสังเคราะห์ rRNA เพื่อใช้ในการสังเคราะห์ไรโบโซม การสังเคราะห์เอนไซม์จึงถูกจำกัดโดยปริมาณกรดนิวคลีอิค ขณะที่เซลล์มีการเจริญ ปริมาณกรดนิวคลีอิคจะลดน้อยลง แต่เมื่อเซลล์หยุดการเจริญ สังเคราะห์ไรโบโซมลดลง จึงมีกรดนิวคลีอิคเหลือเพียงพอที่จะนำไปสังเคราะห์เอนไซม์

2.4 Lactic Acid Bacteria

แบคทีเรียแลคติคมีบทบาทในอาหารหมักหลายชนิด เช่น นมเปรี้ยว ผัก ผลไม้ดอง ไส้กรอกและผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดต่างๆแบคทีเรียกลุ่มนี้มีทั้งพวก Homofermentative เปลี่ยนเป็นกลูโคสเป็นกรดแลคติคเอทานอล กรดอะซิติกและคาร์บอนไดออกไซด์ ด้วยวิธีฟอสโฟคีโตเลส ดังนั้นบทบาทสำคัญของอาหารหมักดองที่สำคัญของแบคทีเรียแลคติคได้แก่ การผลิตกรดทำให้เกิดรสเปรี้ยว และมีกลิ่นหอมของสารต่างๆ และยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆ ที่แตกต่างกันไปตามผลิตภัณฑ์

แบคทีเรียแลคติค เป็นแบคทีเรียแกรมบวก โดยทั่วไปจะไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ไม่สร้างสปอร์และไม่สงผลต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์คะตะเลส คุณลักษณะที่สำคัญอย่างหนึ่งของแบคทีเรีย คือ ทนกรดและไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีเท่ากับสภาวะไร้อากาศ ด้วยเหตุนี้แบคทีเรียแลคติค จึงถูกจัดเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องสารอากาศในการจริญเติบโต และทมต่อออกซิเจน แบคทีเรียแลคติคจัดอยู่ใน Family Lactobacillaceae แต่เดิมกลุ่มแบคทีเรียแลคติคมีเพียง 4 สกุล ได้แก่ *Pediococcus* , *Leuconostoc* , *Streptococcus* และ *Lactobacillus* (Frazier และ Westhoff, 1988) ปัจจุบันเพิ่มสกุลของแบคทีเรียแลคติครวมแล้ว 8 สกุล ได้แก่ *Camobacterium* , *Enterococcus* , *Lactococcus* และ *Vagococcus* โดยที่ *Camobacterium* จัดเป็นสมาชิกในกลุ่ม Lactobailli ส่วนสามสกุลหลังที่ได้เพิ่มนั้นเดิมเป็นสมาชิกในกลุ่ม *Streptococcus*

Pediococci จัดเป็น Homofermentative มีรูปร่างกลม จัดเรียงตัวแบบกลุ่ม กลุ่มละ 4 (Tetrads) แบ่งเป็น 2 ระนาบ บางครั้งอาจพบเซลเดี่ยว เซลเรียงกันเป็นคู่ๆ หรือเป็นสายสั้นๆ จัดเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในปริมาณเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (Micro aerophillic bactria) สามารถเจริญที่อุณหภูมิประมาณ 7-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังเจริญได้ในน้ำเกลือ ซึ่งเข้มข้นไม่เกิน 5.5% แต่เจริญได้ดีหรือไม่สามารถเจริญได้ในน้ำเกลือ ที่ความเข้มข้น 6-10%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 อะมัยเลส (The amylases)

เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายสับสเตรทจำพวก แป้ง ไกลโคเจน รายละเอียดของอะมัยเลสมีดังนี้

ชนิดของอะมัยเลส

2.5.1 α-Amylase

มีชื่อทางการค้าเป็นที่รู้จักกันว่า Termamyl และมีชื่อสามัญว่า diastase และมีชื่อตามระบบว่า α-1,4-glucan 4-glucanohydrolase พบได้ทั้งในพืชและสัตว์ตลอดจนคนจะพบในส่วนของน้ำลาย ตับอ่อน และมีบทบาทสำคัญในการย่อยแป้ง

ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ในการย่อยสลายคือ เจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ α-1,4 ในลักษณะตัดภายในสายโพลีเมอร์อย่างอิสระ (endosplitting amylase) ได้ผลผลิตเป็น glucan และ limit dextrin ที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และยังคงมี configuration เดิม (α-configuration)

2.5.2 β-Amylase (Glucoamylase)

มีชื่อเรียกตามระบบว่า α-1,4-glucan glucohydrolase เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา

พบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวบาร์เลย์ในลักษณะกำลังงอกเป็นข้าวมอลท์ ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ถั่วเหลือง และมันเทศ มี pH optimum ที่ 5.6 ปฏิกิริยาการย่อยสลายของ β-Amylase จะเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิลของแป้งที่ α-1,4ในลักษณะการตัดสายโพลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสาย ด้านไม่มีหมู่รีดิวซ์เข้าสู่ภายในสายไปทีละ 1 หน่วยของมอลโตส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคส ดังนั้นผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาย่อยสลายแป้งหรือไกลโคเจนจะเป็น glucan. Limit dextrin และส่วนใหญ่เป็นมอลโตสที่มี comfiguration ต่างไปจากเดิมคือได้ β-configuration หรือ β-maltose

2.5.3 γ-Amylase

เป็นเอนไซม์ที่พบทั่วไปในจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย รา ลักษณะที่สำคัญของปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้ง ก็คือ สามารถย่อยสลายได้หลายพันธะ ผลผลิตที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นกลูโคส

ลักษณะของสับสเตรท และผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลาย

สับสเตรทของอะมัยเลสเป็นแป้ง ซึ่งประกอบด้วยส่วนของอะมัยเลส และอะมัยโลเพคติน ดังลักษณะความแตกต่างที่แสดงในตารางที่ 2.3 ส่วนผลผลิตของการย่อยสลายด้วยอะมัยเลสชนิดต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แสดงลักษณะของอะมัยโลสและอะมัยโลเพคติน

ลักษณะ	อะมัยโลส	อะมัยโลเพคติน
โครงสร้างทั่วไป	เป็นสายตรงแต่อาจไม่ตลอดทั้งสายแต่ช่วงที่เป็นสายตรงยาวมาก จึงไม่ค่อยพบส่วนที่เป็นสาขามากนัก	สายสาขา
ความยาวของสายตรงโดยเฉลี่ย (คิดเป็นจำนวนกลูโคส)	10^3	25-30
อัตราการโพลีเมอร์ไรเซชั่นของกลูโคส	10^3	10^4-10^5
การเกิดสีกับ I_2	สีน้ำเงินเข้ม	สีม่วงถึงน้ำตาล
% การเปลี่ยนเป็นมอลโตส (เฉพาะ β–amylase)	70-80%	50-60%

ที่มา : ปราณี (2535)

2.6 โปรติเอส (Proteases)

โปรตีนเป็นองค์ประกอบหลักของร่างกาย ความสำคัญของโพลีเมอร์โปรตีนนี้เป็นที่รู้จักกันดีอยู่แล้ว ตลอดทั้งความสาคัญในการสังเคราะห์ในร่างกายด้วย อย่างไรก็ตามโปรตีนถูกทำให้สูงค่าขึ้นได้ด้วยบทบาทที่สำคัญของเอนไซม์ คือโปรติเอส ซึ่งนำเข้ามาสู่อุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมอื่นๆ หลายประเภท ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

โปรติเอส เป็นเอนไซม์ที่สำคัญชนิดหนึ่งในระบบการย่อยอาหารสู่ร่างกาย อาทิเช่น เปปซิน ทริปซิน ไคโมทริปซิน เปปติเดส นอกจากนี้ยังมีโปรติเอสในส่วนของการควบคุมการแข็งตัวของเลือด ควบคุมการจับเชื้อโรคโดยการย่อยสลายโปรตีนจากภายนอก เช่น คาเทปซิน ในที่นี้จะขอกล่าวเน้นเฉพาะในส่วนของการนำเอนไซม์สู่อุตสาหกรรมอาหารได้แก่

- อุตสาหกรรมเนยแข็ง
- อุตสาหกรรมเบียร์
- อุตสหกรรมธัญญพืช
- อุตสาหกรรมสารปรุงแต่งรส
- อุตสาหกรรมอื่นที่ไม่ใช่อาหาร เช่น ฟอกหนัง, ผงซักฟอก,และอาหารสัตว์ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะที่สำคัญของโปรติเอส

โปรติเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส, โปรติเอส,โปรติเนส,เปปไทด์,ไฮโดรเลส และเอนไซม์โปรติโอไลติค มีลักษณะปฏิกิริยา ดังนี้ คือสลายพันธะเปปไทด์ด้วยน้ำดังปฏิกิริยารวม

ปัจจุบันเอนไซม์โปรติเอสจากจุลินทรีย์ได้รับการยอมรับมากเพราะมีต้นทุนในการผลิตต่ำ แหล่งของเอนไซม์โปรติเอสที่ใช้มากในระดับอุตสาหกรรม

โดยทั่วไปเอนไซม์จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานระหว่าง 40-60 องศาเซลเซียส จึงเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียที่ปรับสภาพให้สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิต่ำนั้นจะจัดเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่สามารถทำกิจกรรมได้ที่อุณหภูมิต่ำเช่นเดียวกันซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะมีข้อได้เปรียบบางประการต่ออุตสาหกรรมอาหารและสารทำความสะอาดยกตังอย่างเช่น สามารถใช้ปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสและรสชาติของอาหาร รวมถึงพัฒนาด้านประสิทธิภาพของสารทำความสะอาด ซึ่งเอนไซม์โปรติเอสจัดเป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมของเอนไซม์(ปราณี,2535) จากการศึกษาของ Hoshino และคณะ(1997) ซึ่งสามารถแยก psychrotrophic และ psychrophillic bacteria ที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่แสดงกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิต่ำโดยแยกจากอวัยวะภายในของปลา จากการจำแนกชนิดพบว่าอยู่ในสกุล Pseudomonas ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตเอนไซม์โปรติเอสในช่วง 15 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และอุณหภูมิสูงสุดที่สามารถแสดงกิจกรรมการย่อยโปรตีน คือ 25 องศาเซลเซียส ซึ่งถือว่าเป็นอุณหภูมิที่ต่ำ

Schober และคณะ(1991) ศึกษาการจำแนกและการประยุกตใช้เอนไซม์โปรติเอสจากอวัยวะภายในของปลาหลายๆชนิด ได้แก่ ปลาherring, cod ,trout, carp, roach, perchและ bream พบว่า ปลาต่างชนิดกันจะสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ต่างกัน การแสดงกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ก็จะแตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าการผลิตเอนไซม์โปรติเอสนั้นจะพบได้ทั้งในสภาพที่เป็นกรด เบส และกลาง

Choorit และ Prasertsan (1992) ศึกษาลักษณะของเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียสกุล Bacillus ซึ่งคัดแยกจากผลิตภัณฑ์ปลาหมักทางภาคใต้ของประเทศไทย(บูดู) หลังจากการหมักนาน 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จากการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส พบว่ามีสภาวะที่เหมาะสมดังนี้ คือ ค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 7.0-8.0 อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 55 องศาเซลเซียส และจากการจำแนกชนิดของแบคทีเรียพบว่าเป็น Bacillus subtilis 3สายพันธุ์ และอีก 1 สายพันธุ์ เป็น Bacillus licheniformis

กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสเป็นปัญหาสำคัญในผลิตภัณฑ์นม เอนไซม์ดังกล่าวที่ผลิตจากจุลินทรีย์อาจจะอยู่ภายในเซลล์(intracellular) รวมอยู่กับผนังเซลล์(periplasmic) หรือถูกปล่อยออกมานอกเซลล์สู่อาหาร (extracellular) ชนิดที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อคุณภาพของนม คือเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ และชนิดที่รวมอยู่กับผนังเซลล์ ซึ่งจะถูกปล่อยออกมาในนมเมื่อเซลล์ของจุลินทรีย์แตกในระหว่างผ่านการแปรรูปโดยความร้อน และมีการรายงานเกี่ยวกับแบคทีเรียสกุล Bacillus ที่สามารถเจริญและแสดงกิจกรรมได้ดีที่อุณหภูมิสูง โดยได้คัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มดังกล่าวจากนมและผลิตภัณฑ์นม พบว่าแบคทีเรียส่วนมากที่คัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือกได้ และแสดงกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสได้สูงกว่า 100หน่วยต่อมิลลิลิตร ส่วนมากเป็น Bacillus stearothermophillus ซึ่งสามารถแสดงกิจกรรมของเอนไม์โปรติเอสได้ดีที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส และยังคงแสดงกิจกรรมได้ร้อยละ 100 หลังจากเวลาผ่านไป 30 นาที ที่อุณหภูมิดังกล่าว (Chopra Mathur,1984 อ้างอิงจากปราณี, 2535)

การจำแนกชนิดของเอนไซม์โปรติเอส

การจำแนกชนิดของเอนไซม์โปรติเอสสามารถจำแนกได้หลายวิธี ขึ้นกับสมบัติและลักษณะ เช่น การใช้หลักการของช่วงความเป็นกรด-ด่าง ที่เอนไซม์มีกิจกรรม(กรด กลาง หรือด่าง) ความสามารถในการย่อยแหล่งโปรตีน เช่น เคราติเนส คอลลาเจนเนส และอิลาสเทส และความคล้ายคลึงของคุณลักษณะของเอนไซม์ เช่น ทริปซิน ไคโมทริปซิน ไคโมซิน (Loffler,1986)

การจำแนกชนิดของเอนไซม์โปรติเอสที่พบโดยทั่วไป คือการจำแนกโดยใช้หลักการในการทำ ปฏิกิริยา(Hartley,1960) และกลไกการทำงาน(ปราณี,2535) ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 4 ชนิดใหญ่ๆ คือ ซีรีน,โปรติเอส, ซิสตีน,โปรติเอส, เมทัลโล,โปรติเอส และแอสปาร์ติกโปรติเอส

- <u>ซีรีนโปรติเอส</u> (Scrine protease) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ทั้งหมดเป็นพวก endopeptidase เป็นเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์สูงสุดในความเป็นกรด-ด่างที่เป็นด่าง (ยกเว้น โปรติเอสบางชนิดที่ผลิตโดย Streptomyces sp.) เอนไซม์เหล่านี้มีสมบัติเหมือนกัน คือถูกยับยั้งโดย DPF(di-isopropyl-phosphorofluoridate) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของอนุมูลเซริล(seryl residue) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ มีอนุมูลเซริลอยู่ที่บริเวณเร่งเอนไซม์ที่มีหมู่เซริลอยู่ที่บริเวณเร่งที่ไม่ใช่โปรติเอสก็มี เช่น phosphoglucomutase , alkaliphosphatase นอกจากนี้สมบัติอีกอย่างหนึ่งก็คือ มีหมู่ imidazoteอยู่ที่บริเวณเร่ง
- <u>ซิสตีนโปรติเอส</u> (Cysteine protease) จะคล้ายกับซีรีนโปรติเอสคือ จัดเป็นพวก endopeptidase แต่มีหมู่-SH แทนหมู่ –OH ในบริเวณเร่ง เอนไซม์เหล่านี้จะไวต่อออกซิเจน พบทั่วไปในพืช แต่ก็สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ กิจกรรมเอนไซม์สูงสุดพบในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่มีค่าเป็นกลาง มากกว่าซีรีนโปรติเอส ตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ ปาเปน ซึ่งประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์สายเดี่ยวที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 212 กรดอะมิโนและมีมวลโมเลกุล 23,900 ดาลตัน ที่บริเวณเร่งมีอนุมูล Cys ,His หรือ Asp
- <u>เมทัลโลโปรติเอส</u> (Mctalloprotease) หมายถึงโปรติเอสที่มีอิออนของโลหะรวมในโมเลกุลเอนไซม์หรือร่วมในปฏิกิริยาการย่อย กล่าวคืออยู่ในลักษณะของโคแฟคเตอร์ เช่น สังกะสี เอนไซม์ในกลุ่มนี้ส่วนมากจัดเป็นพวก exopeptidase มีกิจกรรมที่เหมาะสมในช่วงความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลาง ความคงทนเพิ่มขึ้นเมื่อมีแคลเซียมอิออน ในอีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางหนึ่งจะเป็น chelating agents อย่างแรง จะไปขัดขวางเอนไซม์โดยการเคลื่อนย้ายอะตอมของสังกะสี

- แอสปาร์ติกโปรติเอส (Aspartic protease) มีหมู่คาร์บอกซิลจากกรดแอสปาร์ติกในบริเวณเร่งเอนไซม์นี้พบโดยทั่วไป และมีการทำปฏิกิริยาย่อยสูงสุดในช่วงความเป็นกรด-ด่างเป็นกรด ซึ่งตัวอย่างเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ เรนนิน และเปปซิน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 สารเคมี

- น้ำกลั่น
- สารเจือจางตัวอย่าง (0.85%NaCl)
- NA
- NB
- MRS
- L-Tyrosine
- Tris (hydroxymethyl) aminometane 0.1M
- Hydrochloric acid 0.1M
- สารละลายเคซีน 0.5%ใน0.1M Tris-HCL Buffer
- 0.3M Trichloroacetic acid
- Toluene
- 0.2M Acetate Buffer3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS)
- Sodium hydroxide
- Potassium sodium tartate
- Soluble starch
- Sodium dihydrogen phosphate
- Sodium hydrogen phosphate
- Glucose
- Toluene

3.2 เครื่องมือใช้เตรียมวัตถุดิบ

3.2.1 เครื่องใช้

- อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)
- ช้อนตักสาร
- ช้อนสแตนเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Loop
- Needle
- ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.2 เครื่องแก้ว

- กระบอกตวง (Graduated cylinder)
- บีกเกอร์ (Beaker)
- แท่งแก้วคน (Stirrer)
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- หลอดทดลอง (Test tube)
- ปิเปต
- Plate
- แท่งแก้วสามเหลี่ยม
- Volume metric flask

3.2.3 อุปกรณ์ขนาดใหญ่

- เครื่องเขย่า (Shaker)
- Spectophotometer
- ลังถึง
- Hot Air Oven
- Autoclave
- เครื่องชั่งสาร
- Incubator (ตู้บ่ม) 35-37 ^{o}C
- Candle jar
- Oven 55 ^{o}ซ.

3.3 วัตถุดิบ

- กากถั่วเหลือง (จากโรงงานผลิตน้ำมันพืช)
- แป้งข้าวจ้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 เชื้อจุลินทรีย์ (คัดเลือกจากอาหารสัตว์นำเข้า)

- *Bacillus subtilis* B 522
- *Bacillus subtilis* B 525
- *Pediococcus pentosaceus*

3.5 วิธีการทดลอง

1. การศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์

1.1. การเตรียมกากถั่วเหลือง

1.1.1 กากถั่วเหลืองมาปรับให้มีความชื้น 60-65% โดยเติมน้ำไปในอัตราส่วน 1:1 (W/V) คลุกให้เข้ากันดีแล้วตั้งทิ้งไว้ เป็นเวลา 30 นาที

1.1.2 นำกากถั่วเหลือง จากข้อ1.1.1 ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 50 กรัม ทำเป็น 2 ชุด ชุดแรกนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และชุดที่สองให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.2 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

1.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis*

1.2.1.1 นำเชื้อ *Bacillus subtilis* เลี้ยงใน nutrient agar slant บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2.1.2 ทำการถ่ายเชื้อ (ขูดเชื้อประมาณ 2-3 loop) ลงใน nutrient broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุอยู่ใน ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

1.2.1.3 นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

1.2.1.4 ใช้ NaCl ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำการปรับความเข้มข้น ของเชื้อโดยให้ได้ ปริมาณเซลล์ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

1.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อ Lactic Acid Bacteria

1.2.2.1 เลี้ยง Lactic Acid Bacteria ใน MRS deep tube เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

1.2.2.2 เติม MRS broth 5 มิลลิลิตร ลงไปใน MRS deep tube ที่เตรียมได้ ทำการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

1.2.2.3 ใช้ NaCl ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำการปรับความเข้มข้น ของเชื้อโดยให้ได้ปริมาณเซลล์ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์และลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลือง ในระหว่างการหมัก

1.3.1 นำกากถั่วเหลืองที่เตรียมได้จากข้อ 1.1 มาเติมแป้งข้าวจ้าวที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่ 5% เขย่าให้แป้งเข้ากันดีกับกากถั่วเหลือง แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่เตรียมได้จากข้อ 1.2 โดยเติมกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* และ*Pediococcus pentosaceus* อย่างละ 5% ของน้ำหนักถั่วเหลืองที่ใช้ (w/v) แล้วเขย่าให้เข้ากัน ดังนั้นในการทดลองแบ่งเป็นดังนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงการทดลองที่ทำการศึกษา

การทดลองที่	วิธีเตรียมกากถั่วเหลือง	จุลินทรีย์ที่เติม
1	ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. เป็นเวลา 15 นาที	*Bacillus subtilis* B 522 และ *Pediococcus pentosaceus*
2	ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 ° ซ. เป็นเวลา 15 นาที	*Bacillus subtilis* B 525 และ *Pediococcus pentosaceus*
3	ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ° ซ. เป็นเวลา 60 นาที	*Bacillus subtilis* B 522 และ *Pediococcus pentosaceus*
4	ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ° ซ. เป็นเวลา 60 นาที	*Bacillus subtilis* B 525 และ *Pediococcus pentosaceus*

1.3.2 ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง นาน30 ชั่วโมงโดยเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ของการหมัก เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยวิธี Spread plate บน NA บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ *Pediococcus pentosaceus* โดยวิธี Spread plate บน MRS บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ใน Candle jar ที่อุณหภูมิห้อง ตามลำดับ และตรวจสอบลักษณะทางกายภาพ (สี , กลิ่น , ความเปื่อยยุ่ย)

1.3.3 นำค่าปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ได้จากการตรวจนับและลักษณะทางกายภาพที่ชั่วโมงที่ 0 , 6, 10 , 24 และ 30 ของการหมักแต่ละการทดลองในข้อ 1.3.1 มาเปรียบเทียบกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์และกิจกรรมเอ็นไซม์ของผลิตภัณฑ์

2.1 นำกากถั่วเหลืองหมักที่ ช.ม.30 ไปอบที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปบดละเอียด จะได้เป็นผลิตภัณฑ์ เก็บไว้ในถุงพลาสติกที่ปิดสนิทแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส

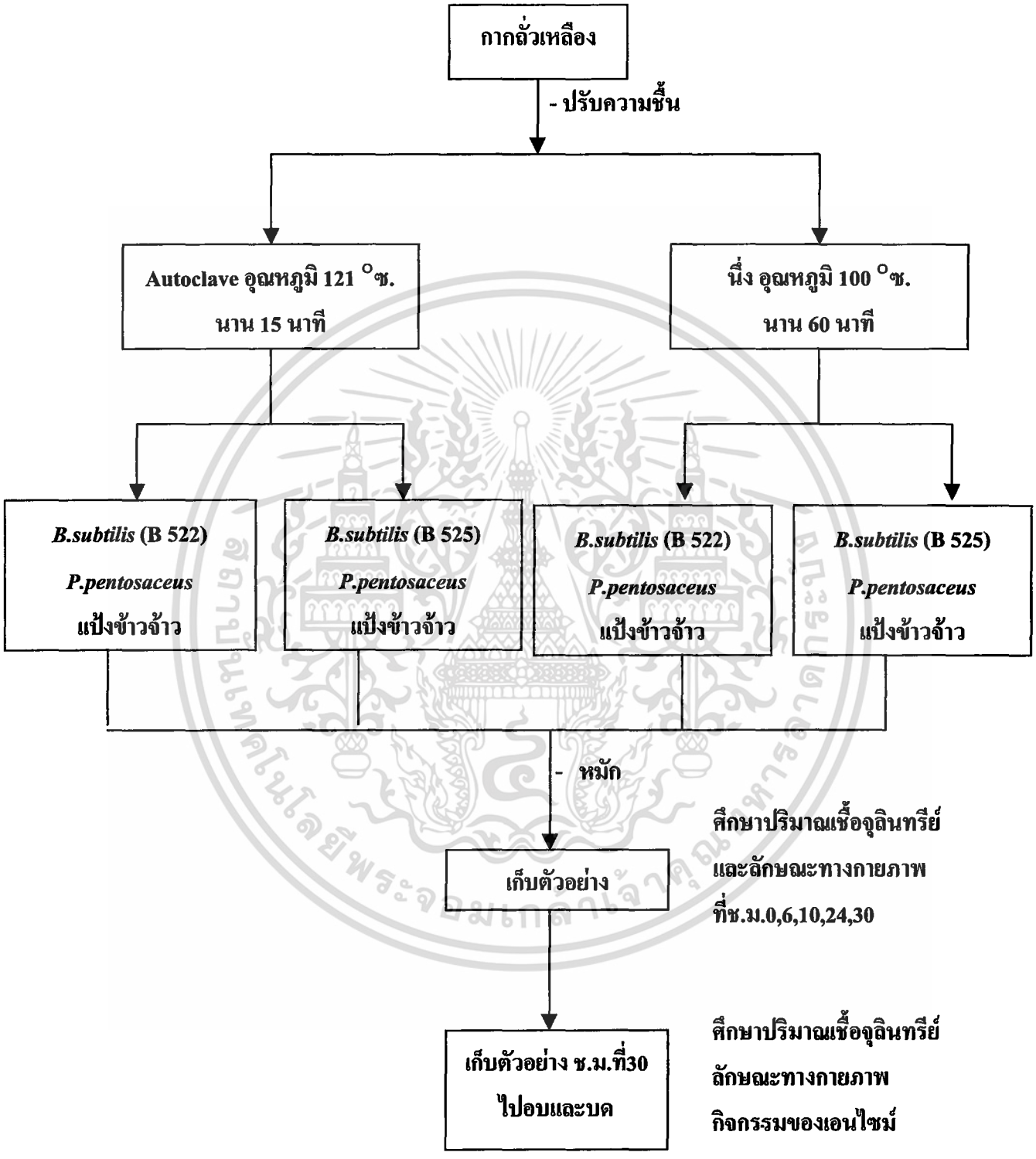
2.2 นำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ตามข้อ 1.3.2 และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส โดยวิธีของ Bottle,1958 และ Walter,1984 ตามลำดับ

2.3 นำค่าปริมาณแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* , *Pediococcus pentosaceus* และกิจกรรมของเอนไซม์อะมัยเลส ,โปรติเอส ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายของแต่ละการทดลองมาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์มาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96817

ภาพที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการศึกษาการผลิตอาหารสัตว์โปรไบโอติค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และ วิจารณ์

4.1 การศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์

4.1.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลืองหมัก

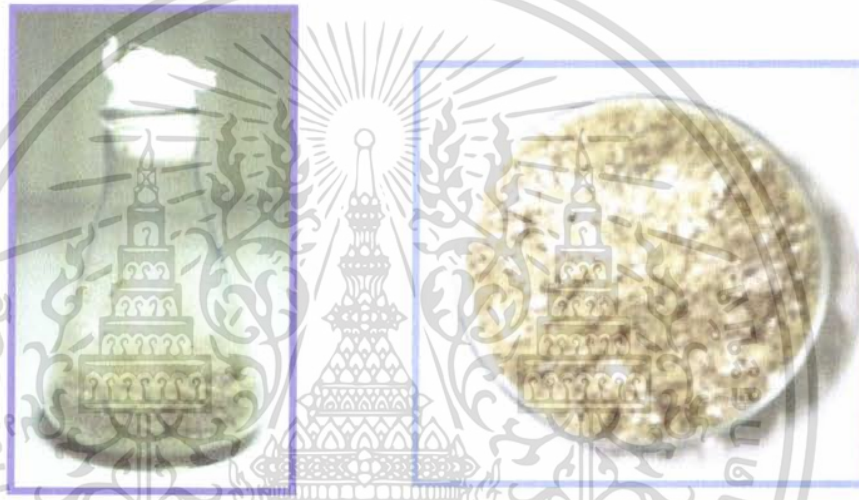
พบว่ากากถั่วเหลืองหลังจากเติมน้ำเพื่อปรับให้มีความชื้นประมาณ 60 % มีลักษณะชุ่มน้ำ มีสีเหมือนฟางข้าว และพองตัว ดังภาพที่ 4.1

ภาพที่ 4.1 แสดงกากถั่วเหลือง ที่ปรับความชื้นแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำกากถั่วเหลืองที่ปรับความชื้นแล้ว มาให้ความร้อนแบบนึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที และให้ความร้อนแบบ Autoclaveที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจึงเติมกล้าเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* ร่วมกับ *Bacillus subtilis* และแป้งข้าวจ้าว ปริมาณ 5 % จะเห็นได้ว่ากากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบนึ่งมีสีเหลืองเหมือนฟางข้าว และชุ่มน้ำมากขึ้น ส่วนกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave มีสีเหลืองอมน้ำตาล ดังภาพที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ

ภาพที่ 4.2 กากถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนแบบนึ่ง 100 องศาเซลเซียส 60 นาที ที่เติมกล้าเชื้อ และแป้งข้าวจ้าวแล้ว



ภาพที่ 4.3 กากถั่วเหลืองที่ผ่านการให้ความร้อนแบบ Autoclave 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ที่เติมกล้าเชื้อและแป้งข้าวจ้าวแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18949

ทำการเก็บตัวอย่างช.ม.ที่ 0 ,6 , 10 , 24 , 30 เพื่อศึกษาลักษณะทางกายภาพ (สี กลิ่น ความเปื่อยยุ่ย) ของกากถั่วเหลืองหมักที่ผ่านความร้อนแบบนึ่ง ได้ผลคือ ลักษณะของสีที่เกิดขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป จะพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง คือมีสีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง ส่วนลักษณะของกลิ่น พบว่าช.ม.ที่ 0 , 6 , 10 มีกลิ่นถั่วเหลือง และช.ม.ที่ 24 , 30 มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย ลักษณะของความเปื่อยยุ่ย พบว่าช.ม.ที่ 0 , 6 , 10 มีลักษณะร่วนซุย และช.ม.ที่ 24 , 30 มีลักษณะเหนียว แฉะติดมือเล็กน้อย จะเห็นว่าการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ B 522 ร่วมกับ *P.pentosaceus* ให้ผลเช่นเดียวกับการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ B 525 ร่วมกับ *P.pentosaceus* ซึ่งแสดงได้ดังตารางที่ 4.1 ส่วนกากถั่วเหลืองหมักที่ผ่านความร้อนแบบ Autoclave ได้ผลคือ ลักษณะของสีที่เกิดขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป จะพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลง คือมีสีเหลืองอมน้ำตาล ส่วนลักษณะของกลิ่น พบว่าช.ม.ที่ 0 , 6 , 10 มีกลิ่นถั่วเหลือง และช.ม.ที่ 24 , 30 มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย ส่วนลักษณะของความเปื่อยยุ่ย พบว่าช.ม.ที่ 0 , 6 , 10 มีลักษณะร่วนซุย และช.ม.ที่ 24 , 30 มีลักษณะเหนียว แฉะติดมือเล็กน้อย จะเห็นว่าการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ B 522ร่วมกับ *P.pentosaceus* ให้ผลเช่นเดียวกับการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ B 525 ร่วมกับ *P.pentosaceus* ซึ่งแสดงได้ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลืองหมักโดยวิธีการให้ความร้อนแบบนึ่งที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

ลักษณะ	ระยะเวลา (ช.ม.)	การทดลอง	
		B 522 และ *P. pentosaceus* แบบนึ่ง	B 525 และ *P. pentosaceus* แบบนึ่ง
สี	0	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง
	6	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง
	10	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง
	24	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง
	30	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง	สีเหลืองเหมือนสีฟางแห้ง
กลิ่น	0	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	6	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	10	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	24	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย
	30	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย
ความเปื่อยยุ่ย	0	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	6	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	10	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	24	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย
	30	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ตารางที่ 4.2 แสดงลักษณะทางกายภาพของกากถั่วเหลืองหมักโดยวิธีการให้ความร้อนแบบ Autoclave ที่ระยะเวลาการหมักต่างๆ

ลักษณะ	ระยะเวลา (ช.ม.)	การทดลอง	
		B 522 และ *P. pentosaceus*แบบAutoclave	B 525 และ *P. pentosaceus*แบบAutoclave
สี	0	สีเหลืองอมน้ำตาล	สีเหลืองอมน้ำตาล
	6	สีเหลืองอมน้ำตาล	สีเหลืองอมน้ำตาล
	10	สีเหลืองอมน้ำตาล	สีเหลืองอมน้ำตาล
	24	สีเหลืองอมน้ำตาล	สีเหลืองอมน้ำตาล
	30	สีเหลืองอมน้ำตาล	สีเหลืองอมน้ำตาล
กลิ่น	0	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	6	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	10	มีกลิ่นถั่วเหลือง	มีกลิ่นถั่วเหลือง
	24	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย
	30	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย	มีกลิ่นถั่วหมักเล็กน้อย
ความเปื่อยยุ่ย	0	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	6	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	10	ร่วนซุย	ร่วนซุย
	24	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย
	30	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย	เหนียวแฉะติดมือเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลืองหมัก

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* ของกากถั่วเหลืองหมักที่ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ช.ม.

เวลา (ชั่วโมง)	นึ่ง		Autoclave	
	B 522 *P.pentosaceus*	B 525 *P.pentosaceus*	B 522 *P.pentosaceus*	B 525 *P.pentosaceus*
0	4.9×10^5	2.1×10^5	6.8×10^5	5.5×10^5
6	3.4×10^8	3.6×10^8	6.8×10^8	3.9×10^8
10	4.5×10^9	4.8×10^9	3.5×10^9	4.7×10^9
24	8.1×10^9	5.0×10^9	7.8×10^9	6.9×10^9
30	6.1×10^9	5.7×10^9	4.8×10^9	7.8×10^9

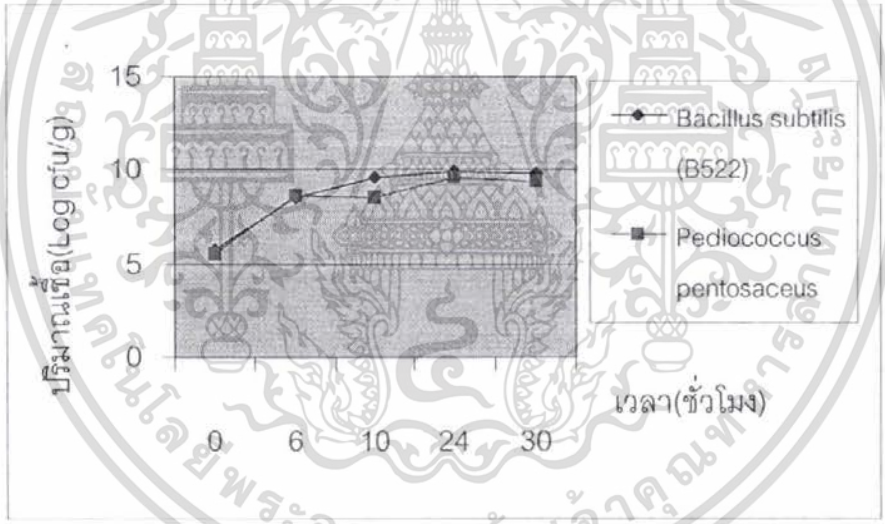
ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลืองหมักที่ระยะเวลาของการหมัก 0 , 6 , 10 , 24 และ 30 ช.ม.

เวลา (ชั่วโมง)	นึ่ง		Autoclave	
	B 522 *P.pentosaceus*	B 525 *P.pentosaceus*	B 522 *P.pentosaceus*	B 525 *P.pentosaceus*
0	3.3×10^5	3.7×10^5	3.3×10^5	4.9×10^5
6	4.7×10^8	2.9×10^8	4.7×10^8	2.8×10^8
10	3.7×10^8	5.3×10^8	3.7×10^8	3.8×10^9
24	4.3×10^9	4.4×10^9	4.3×10^9	5.6×10^9
30	2.7×10^9	3.9×10^9	2.7×10^9	5.8×10^9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเริ่มต้นทำการหมักกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบนึ่งโดยใช้กล้าเชื้อ B 522 ร่วมกับ *P. pentosaceus* พบว่าเมื่อระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้นปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยB 522 ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $4.9x10^5$ cfu/g และเมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $6.1x10^9$ cfu/g ส่วน *P.pentosaceus* ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $3.3x10^5$ cfu/g และ เมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $2.7x10^9$ cfu/g ดังจะเห็นได้จาก ตารางที่ 4.3 , 4.4 และภาพที่ 4.4

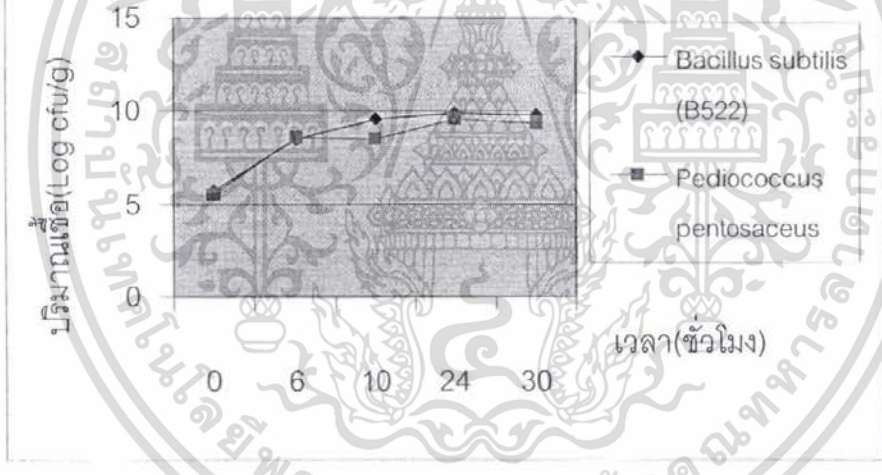
ภาพที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ*Bacillus Subtilis* (B 522) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลืองที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบนึ่ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเริ่มต้นทำการหมักกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบนึ่งโดยใช้กล้าเชื้อ B 525 ร่วมกับ *P. pentosaceus* พบว่าเมื่อระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้นปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นโดย B 525 ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $2.1x10^5$ cfu/g และเมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $5.7x10^9$ cfu/g ส่วน *P.pentosaceus* ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $3.7x10^5$ cfu/g และ เมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $3.9x10^9$ cfu/g ดังจะเห็นได้จาก ตารางที่ 4.3 , 4.4 และภาพที่ 4.5

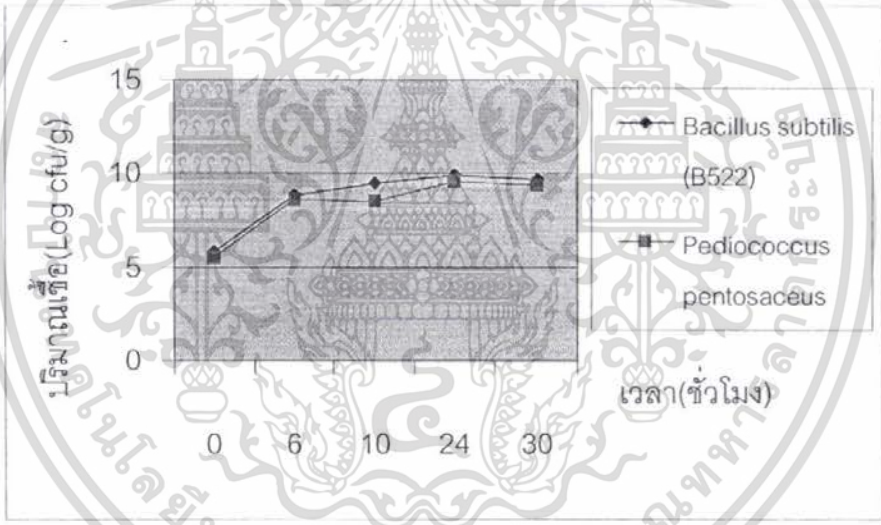
ภาพที่ 4.5 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ ***Bacillus Subtilis*** **(B 525)** และ ***Pediococcus pentosaceus*** **ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลืองที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบนึ่ง**



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเริ่มต้นทำการหมักกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave โดยใช้กล้าเชื้อ B 522 ร่วมกับ *P. pentosaceus*พบว่าเมื่อระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้นปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดย B 522 ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $6.8x10^5$ cfu/g และเมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $4.8x10^9$ cfu/g ส่วน *P.pentosaceus* ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $3.3x10^5$ cfu/g และ เมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $2.7x10^9$ cfu/g ดังจะเห็นได้จาก ตารางที่ 4.3 , 4.4 และภาพที่ 4.6

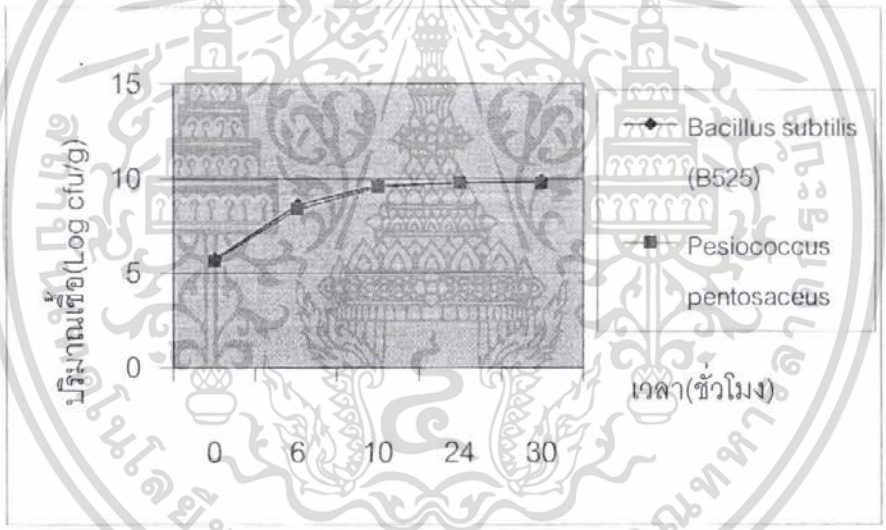
ภาพที่4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus Subtilis*(B 522)และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลืองที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบAutoclave



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเริ่มต้นทำการหมักกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave โดยใช้กล้าเชื้อ B 525 ร่วมกับ *P. pentosaceus*พบว่าเมื่อระยะเวลาหมักเพิ่มขึ้นปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดย B 525ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $5.5x10^5$ cfu/g และเมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $7.8x10^9$ cfu/g ส่วน *P.pentosaceus* ช.ม.ที่ 0 มีปริมาณ $4.9x10^5$ cfu/g และ เมื่อช.ม.ที่ 30 เชื้อเพิ่มขึ้นเป็น $5.8x10^9$ cfu/g ดังจะเห็นได้จาก ตารางที่ 4.3 , 4.4 และภาพที่ 4.7

ภาพที่ 4.7 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *Bacillus Subtilis* (B 525) และ *Pediococcus pentosaceus* ที่ระยะเวลาต่างๆของการหมักกากถั่วเหลืองที่เตรียมโดยให้ความร้อนแบบAutoclave



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ ช.ม.ที่ 30 เมื่ออบและบดแล้ว (ผลิตภัณฑ์)

ผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองหมักที่มีการเติมกล้าเชื้อที่ต่างกัน คือ B 522 และ B 525 เมื่อนำไปอบและบดแล้ว จากนั้นนำมาตรวจนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ จะพบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงจากเดิม กล่าวคือ กากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง ช.ม.ที่ 30 มีปริมาณเชื้อ B 522 และ *P.pentosaceus* เท่ากับ $6.1x10^9$ และ $2.7x10^9$ เมื่อนำไปอบและบดแล้ว พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเป็น $3.4x10^6$ และ $8.3x10^5$ cfu/g ตามลำดับ และส่วนปริมาณเชื้อ B 525 และ *P.pentosaceus* ก็เช่นเดียวกันเมื่อนำไปอบและบด จะพบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงจากเดิม คือกากถั่วเหลืองหมักช.ม.ที่ 30 มีปริมาณเชื้อ B 525 และ *P.pentosaceus* เท่ากับ $5.7x10^9$ และ $3.9x10^9$ เมื่อนำไปอบและบดแล้ว พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเป็น $3.1x10^6$ และ $7.3x10^4$ cfu/g ตามลำดับ ส่วนกากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave ช.ม.ที่ 30 มีปริมาณเชื้อ B 522 และ *P.pentosaceus* เท่ากับ $4.8x10^9$ และ $2.7x10^9$ เมื่อนำไปอบและบดแล้ว พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเป็น $4.0x10^6$ และ $6.0x10^4$ cfu/g ตามลำดับ และส่วนปริมาณเชื้อ B 525 และ *P.pentosaceus* ก็เช่นเดียวกันเมื่อนำไปอบและบด จะพบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงจากเดิม คือกากถั่วเหลืองหมักช.ม.ที่ 30 มีปริมาณเชื้อ B 525 และ *P.pentosaceus* เท่ากับ $7.8x10^9$ และ $5.8x10^9$ เมื่อนำไปอบและบดแล้ว พบว่ามีปริมาณเชื้อลดลงเป็น $1.5x10^6$ และ $5.9x10^4$ cfu/g ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.5

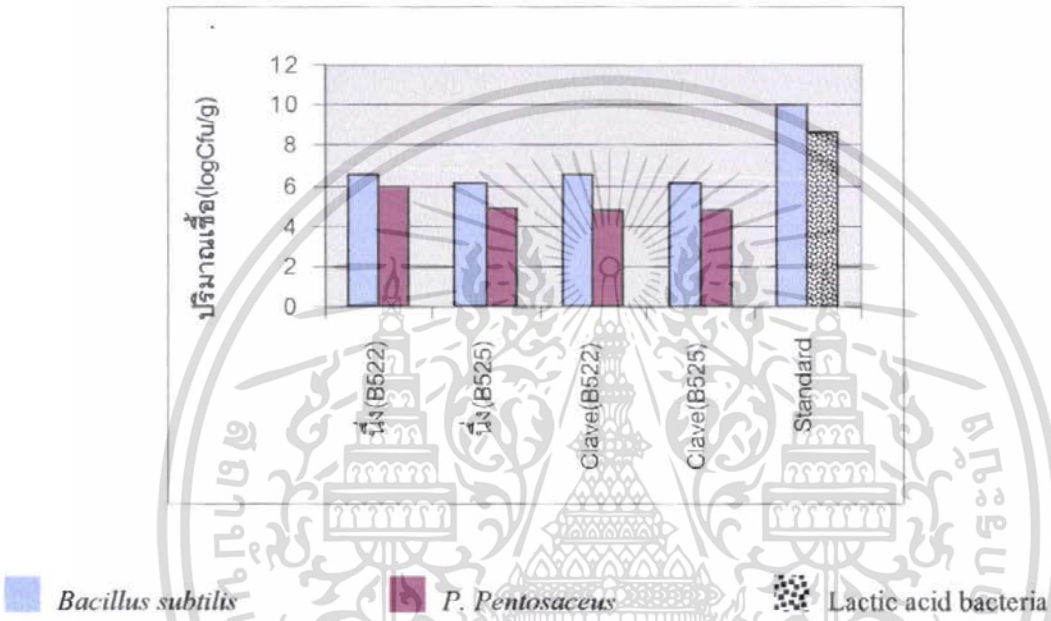
ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว

การทดลอง / ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (cfu/g)	นึ่ง		Autoclave	
	B 522 *P.pentosaceus*	**B 525** *P.pentosaceus*	**B 522** *P.pentosaceus*	**B 525** *P.pentosaceus*
Bacillus subtilis	3.4×10^6	3.1×10^6	4.0×10^6	1.5×10^6
Pediococcus pentosaceus	8.3×10^5	7.3×10^4	6.0×10^4	5.9×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าปริมาณเชื้อ *B. subtilis* และ *P. pentosaceus* ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้วไปเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์มาตรฐานซึ่งเป็นอาหารสัตว์นำเข้าจากต่างประเทศ พบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ มีปริมาณน้อยกว่าของผลิตภัณฑ์มาตรฐาน ดังภาพที่ 4.8

ภาพที่ 4.8 ปริมาณเชื้อ *B. subtilis* และ *P. pentosaceus* ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว



หมายเหตุ Standard คือ อาหารสัตว์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเปรียบเทียบทางสถิติของปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้วของแต่ละการทดลอง พบว่าปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงสามารถเลือกการทดลองใดก็ได้ไปใช้ เพราะให้ผลที่คล้ายคลึงกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 แสดงค่าทางสถิติในแต่ละการทดลองของเชื้อ *Bacillus subtilis*

การทดลอง	Mean ±Std Deviation
ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 522)	6.1822 ± .4696[a]
ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 525)	6.4807 ± .1156[a]
ให้ความร้อนแบบAutoclave(B 522)	6.6002 ± .08[a]
ให้ความร้อนแบบAutoclave(B 525)	6.1279 ± .2806[a]

a หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P> 0.05)

ปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* มีแตกต่างกันทางสถิติโดยกากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง และเติมกล้าเชื้อ B 522 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% จากกากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 525), Autoclave(B 522,B 525) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าทางสถิติในแต่ละ การทดลองของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

การทดลอง	Mean ±Std Deviation
ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 522)	5.8472 ± .3356[b]
ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 525)	4.5389 ± .8454[a]
ให้ความร้อนแบบAutoclave(B 522)	4.7773 ± .03[a]
ให้ความร้อนแบบAutoclave(B 525)	4.6129 ± .5151[a]

a , b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P> 0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

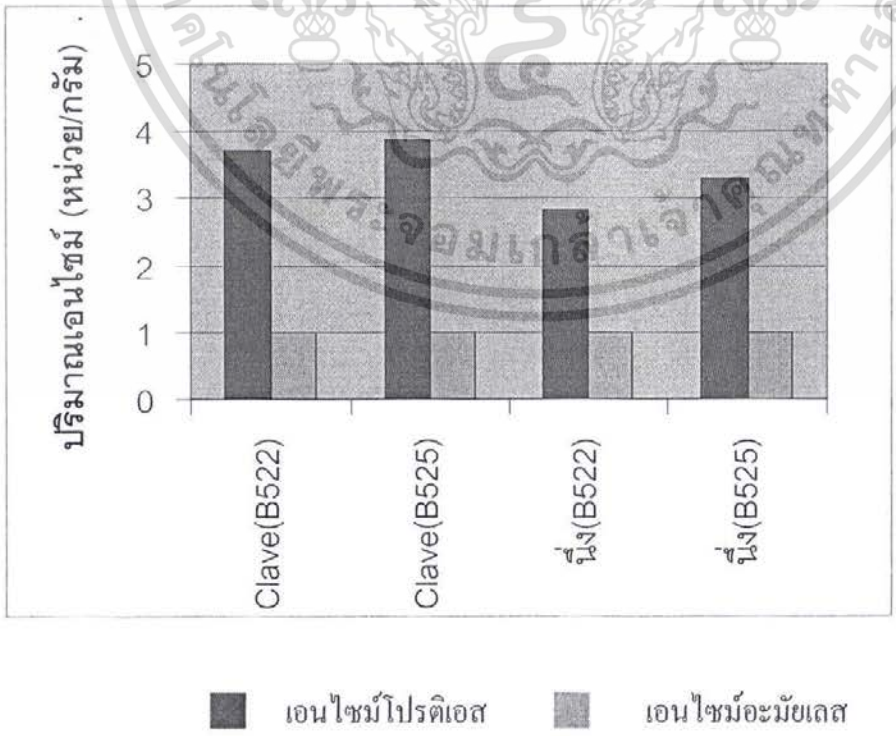
4.4 ปริมาณเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว

ในแต่ละการทดลองจะพบว่าเอนไซม์อะมัยเลสมีปริมาณน้อยมาก ส่วนปริมาณเอนไซม์โปรติเอสนั้นมีค่าใกล้เคียวกัน คือผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave (B 525) ให้ปริมาณเอนไซม์โปรติเอสมากที่สุด คือ 3.87 หน่วย/กรัม รองลงมาคือผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave (B 522) มีปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเท่ากับ 3.72 หน่วย/กรัม ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง(B 522,B 525) มีปริมาณเอนไซม์โปรติเอสที่ใกล้เคียงกันคือ 2.82 และ 3.29 หน่วย/กรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณเอนไซม์โปรติเอสและอะมัยเลสที่ได้จากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว

เอนไซม์	นึ่ง		Autoclave	
(หน่วย/กรัม)	B 522	B 525	B 522	B 525
โปรติเอส	2.82	3.29	3.72	3.87
อะมัยเลส	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก	น้อยมาก

ภาพที่ 4.9 ปริมาณเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส ของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองที่บดอบแห้งแล้ว

เมื่อสังเกตลักษณะทางกายภาพของกลิ่นและเนื้อสัมผัสในแต่ละการทดลองจะพบว่าไม่มีความแตกต่างกันโดยเนื้อสัมผัสมีลักษณะเป็นเม็ดหยาบแข็ง และกลิ่นมีกลิ่นเหมือนถั่วแห้ง ลักษณะสีของผลิตภัณฑ์ให้ความร้อนแบบเดียวกันจะมีสีเหมือนกันถึงแม้จะมีการเติมกล้าเชื้อที่แตกต่างกันก็ตามคือB 522และB525 โดยผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B522,B525) มีสีน้ำตาลอ่อนเหมือนฟางข้าว ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave (B522,B525) มีสีน้ำตาลเข้มเหมือนกะลามะพร้าว และเมื่อเปรียบเทียบสีของผลิตภัณฑ์ที่ให้ความร้อนต่างชนิดกัน พบว่ามีสีที่ต่างกัน คือวิธีให้ความร้อนแบบนึ่งจะมีสีน้ำตาลอ่อนเหมือนฟางข้าว ส่วนวิธีให้ความร้อนแบบ Autoclave จะมีสีน้ำตาลเข้มเหมือนกะลามะพร้าว
ดังแสดงในตารางที่ 4.9 และ ภาพที่ 4.10 , 4.11 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.9 แสดงลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

ลักษณะ	การทดลอง			
	B 522 + *P.pentosaceus* แบบ นึ่ง	B 525 + *P.pentosaceus* แบบ นึ่ง	B 522 + *P.pentosaceus* แบบ Autoclave	B 525 + *P.pentosaceus* แบบ Autoclave
สี	สีน้ำตาลอ่อน	สีน้ำตาลอ่อน	สีน้ำตาลเข้ม	สีน้ำตาลเข้ม
กลิ่น	กลิ่นถั่วแห้ง	กลิ่นถั่วแห้ง	กลิ่นถั่วแห้ง	กลิ่นถั่วแห้ง
เนื้อสัมผัส	หยาบแข็ง	หยาบแข็ง	หยาบแข็ง	หยาบแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.10 กากถั่วเหลืองหมักอบแห้งที่บดแล้ว โดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 100 ° ซ. นาน 60 นาที เติมกล้าเชื้อ B 522+ *P. pentosaceus* (ก) และ B 525+ *P.pentosaceus* (ข)

(ก) (ข)

ภาพที่ 4.11 กากถั่วเหลืองหมักอบแห้งที่บดแล้ว โดยการให้ความร้อนอุณหภูมิ 121°ซ. นาน 15 นาที เติมกล้าเชื้อ B 522 + *P. pentosaceus* (ก) และ B 525 +*P.pentosacceus*(ข)

(ก) (ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักกากถั่วเหลือง

การเตรียมกากถั่วเหลืองโดยการให้ความร้อนในวิธีต่างกัน คือวิธีการนึ่ง และAutoclave กับการใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัสที่ต่างกัน คือB 522 และ B 525 ร่วมกับ *Pediococcus pentosaceus* ให้ผลการหมักเป็นในแนวทางเดียวกัน คือ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 5 เป็น 9 Log cfu/g ที่ระยะเวลาการหมัก 30 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อ *B. subtilis* ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงสามารถเลือกการทดลองใดก็ได้ไปใช้ เพราะให้ผลที่คล้ายคลึงกัน ส่วนปริมาณเชื้อ *P. pentosaceus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยกากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง และเติมกล้าเชื้อ B 522 มีความแตกต่างจากการทดลองอื่น คือกากถั่วเหลืองหมักที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง (B 525), Autoclave(B 522,B 525) ตามลำดับ

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์และกิจกรรมเอ็นไซม์ของผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมัก 30 ช.ม. แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และบด พบว่ามี *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* เหลืออยู่ในช่วง 6-7 และ 5-6 Log cfu/g ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าเป็นระดับใกล้เคียงกัน ส่วนปริมาณเอนไซม์อะมัยเลส และโปรติเอสมีปริมาณที่น้อยมาก อาจมีสาเหตุมาจากอุณหภูมิที่ใช้อบสูงเกินไปทำให้เอนไซม์ดังกล่าวสูญเสียกิจกรรม เมื่อนำปริมาณจุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์มาเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์มาตรฐานพบว่า ปริมาณของจุลินทรีย์และกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์มาตรฐาน นำข้อมูลปริมาณ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* มาวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า

ข้อเสนอแนะ

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มที่จะสามารถนำกากถั่วเหลืองมาทำการหมักร่วมกับเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งทำเป็นอาหารสัตว์โปรไบโอติคได้ เพื่อลดการนำเข้าจากต่างประเทศ ถึงแม้ว่าในการทดลองจะพบว่ามีปริมาณของจุลินทรีย์ และกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ในปริมาณที่ต่ำกว่าผลิตภัณฑ์มาตรฐานก็ตาม ซึ่งอาจมีการปรับปรุงขั้นตอนการผลิตให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น เช่น เติมสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักเพื่อทำให้จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีขึ้น และผลิตเอนไซม์ออกมาปริมาณมาก หรือการใช้อุณหภูมิในการอบกากถั่วเหลืองหมักให้ต่ำกว่าเดิม และอาจมีการใช้ลมช่วยในการกระจายความร้อน เพื่อทำให้การให้ความร้อนมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น ส่งผลให้จุลินทรีย์ไม่ถูกทำลายลงไปมาก เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

"กากถั่วเหลือง" [Online] aviable : http://www.dld.go.th/inform/ksoy.html

ธารารัตน์ ศุภศิริ .2542. แบคทีเรียเพื่อสุขภาพ บทคัดย่อ ลำดับที่ 36/31วารสารวิทยาศาสตร์ ฉบับที่ ป. 53 ฉ. 6 พฤศจิกายน ธันวาคม .หน้า 357-360.

นงเยาว์ จันทราช.2517.ผลของการใช้อาหารเสริมโปรตีนจากถั่วเหลืองต่างกรรมวิธีต่อประสิทธิภาพและการเจริญเติบโตของลูกสุกรหย่านมก่อนกำหนด.วิทยานิพนธ์ป.โท.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพ.

ปราณี อ่านเปรื่อง.2535. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่1.พิมพ์ครั้งที่2. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์,กรุงเทพฯ.304น

ปัทมาวดี เสตะกัณณะ.2535.การหมักถั่วเหลืองแบบอาหารแข็งด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมเพื่อเพิ่มปริมาณโปรตีนละลายน้ำวิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ.

วันชัย สมชิต .2527. ผลิตภัณฑ์อาหารหมัก ในประเสริฐสายสิทธิ์และคณะ (ผู้รวบรวม) ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทยสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 114-132

อรอนงค์ นัยวิกุล.2524. ผลิตภัณฑ์พืชตระกูลถั่ว. วิทยาศาสตร์การอาหาร 13(1):หน้า14-25.

เอกสารประกอบการประชุม สถานการณ์การใช้โปรไบโอติกในคน-สัตว์ และแนวโน้มในอนาคต 2 สิงหาคม 2545 โรงแรม โอเรนเตล.

Borchers,R.and L.D.manage.1972. Rapod omprovement in nutritional puality of soybean by dielectric heating.J.Food Sci.37: 333-334.

Bottle,R.T. and Gilbert,G.A.1958. The use o alkaline reagents o determine carbohyrate reducing groups.I. 3,5-dinirosalicylateion and interference by air. Analyst 83 : 4.3

Choorit,W.and P.Prasertsan.1992. Characterization of proteases produced by newly and identified proteolytic microorganisms from fermented fish(Budu).World J. Micro.Biotech.8(3):284-286.

Frattali,V.andR.F. Steiner.1968. Soybean inhibitors.I.Seperation and properties of three inhibitors from commercial crude soybean trypsin inhibitor. Biochemistry 7:521-530.

Hale,M.B.1969. Relative activities of commercially: a reliable enzymes in the hydrolysis of fish protein. J.Food Technol. 23: 107-110.

Hartley,B.S.1960.Proteolytic enzymes,pp.104-112.Cited by A.Loffler.Proteolytic enzymes:sources and applications.Food Tech.1:63-70.

Hoshino,T.,K.Ishizaki,T.Sakamoto,H. Kumeta,I.Yamoto,H.Matsuyama and S.Ohgiya.1997.Isolation of a Pseudomonas species from fish intestine that produces a protease active at low temperature.Appl.Microbiol.25:70-72.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Journal of Applied Bacteriology 1989 Probiotics in man and animals p.365-378

Keay,L. and B.Wildi.1970. Protease of the genus Bacillus. Biotechnol. Bioeng.12:249.

Loffler,A.1986.Proteolytic enzyme:sources and applications.Food Technol.38(1):63-70.

Rackis,J.J.1966 .Soybean trypsin inhibitors:Their inactivation during meal processing.Food Tech.20: 1482-1484.

Schober,B.,G.Jansen and U.Benhke.1991.Studies on isolation, characterizations of proteolytic enzymes from fish visera.Fisherie-Forschung29(2):89-92.

Smith, A.W. and S.J. Circle.1972. Soybean: Chemistry and Technology Volume I.Protein.AVI Publishing Co.,Inc.,Westport,Connecticut. 470p

Walter,H.E.1984. Method with haemoglobi, casien and azocoll as substrate, In method of enzymatic analysis, Bermeyer, J. and Grabl , M., eds., Vol.s,pp.270-277, Weinheim : verlag Chemic Chemie GmbH

Wolf,W.J.andJ.C.Cowan.1971 Soybean as a Food Source. CRC.Monotropics series. The Chemical Rubber Co.,London.86p.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

ปริมาณของเชื้อ *Bacillus subtilis* และ *Pediococcus pentosaceus* ของกากถั่วเหลือง หมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก1 แสดงปริมาณของเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 522 และ *Pediococcus pentosaceus* ของการหมักกากถั่วเหลือง ที่ชั่วโมง 0 , 6 , 10 , 24 , 30 และ Product โดยวิธีการนึ่ง

ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 522

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	9.7×10^5	2.7×10^5	2.4×10^5	4.9×10^5
6	2.7×10^8	2.7×10^8	4.7×10^8	3.4×10^8
10	5.3×10^9	4.9×10^9	3.2×10^9	4.5×10^9
24	8.8×10^9	9.9×10^9	5.6×10^9	8.1×10^9
30	9.4×10^9	3.8×10^9	5.2×10^9	6.1×10^9
Product	4.4×10^5	2.5×10^6	3.2×10^6	3.4×10^6

ปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	5.1×10^5	1.2×10^5	3.5×10^5	3.3×10^5
6	5.2×10^8	4.3×10^8	4.7×10^8	4.7×10^8
10	7.1×10^8	1.2×10^8	2.7×10^8	3.7×10^8
24	4.6×10^9	3.1×10^9	5.1×10^9	4.3×10^9
30	3.2×10^9	1.1×10^9	3.7×10^9	2.7×10^9
Product	1.0×10^6	2.9×10^5	1.2×10^6	8.3×10^5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก2 แสดงปริมาณของเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 525 และ *Pediococcus pentosaceus* ของการหมักกากถั่วเหลือง ที่ชั่วโมง 0 , 6 , 10 , 24 , 30 และ Product โดยวิธีการนึ่ง

ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 525

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	1.9×10^5	3.2×10^5	1.2×10^5	2.1×10^5
6	2.5×10^8	5.2×10^8	3.2×10^8	3.6×10^8
10	6.3×10^8	6.0×10^9	2.2×10^9	4.8×10^9
24	4.5×10^9	7.3×10^9	3.1×10^9	5.0×10^9
30	6.7×10^9	6.1×10^9	4.4×10^9	5.7×10^9
Product	4.1×10^6	2.7×10^6	2.5×10^6	3.1×10^6

ปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	1.0×10^5	1.4×10^5	8.8×10^5	3.7×10^5
6	2.2×10^8	4.1×10^8	2.5×10^8	2.9×10^8
10	7.3×10^8	3.6×10^8	5.1×10^8	5.3×10^8
24	3.3×10^9	5.6×10^9	4.2×10^9	4.4×10^9
30	4.4×10^9	3.3×10^9	4.1×10^9	3.9×10^9
Product	3.7×10^3	8.6×10^4	1.3×10^5	7.3×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก3 แสดงปริมาณของเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 522 และ *Pediococcus pentosaceus* ของการหมักกากถั่วเหลือง ที่ชั่วโมง 0 , 6 , 10 , 24 , 30 และ Product โดยวิธีการAutoclave

ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 522

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	8.6×10^5	5.2×10^5	6.7×10^5	6.8×10^5
6	8.0×10^8	5.1×10^8	7.4×10^8	6.8×10^8
10	1.0×10^9	4.4×10^9	5.1×10^9	3.5×10^9
24	9.9×10^9	7.3×10^9	6.3×10^9	7.8×10^9
30	3.8×10^9	4.7×10^9	5.9×10^9	4.8×10^9
Product	4.2×10^6	4.7×10^6	3.2×10^6	4.0×10^6

ปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	6.7×10^5	2.7×10^5	8.3×10^5	3.3×10^5
6	4.2×10^8	4.4×10^8	3.2×10^8	4.7×10^8
10	3.5×10^8	4.1×10^8	3.9×10^8	3.7×10^8
24	5.0×10^9	6.7×10^9	7.1×10^9	4.3×10^9
30	8.2×10^9	6.1×10^8	8.3×10^9	2.7×10^9
Product	5.5×10^4	6.1×10^4	6.4×10^4	6.0×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก4 แสดงปริมาณของเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 525 และ *Pediococcus pentosaceus* ของการหมักกากถั่วเหลือง ที่ชั่วโมง 0 , 6 , 10 , 24 , 30 และ Product โดยวิธีการAutoclave

ปริมาณเชื้อ *Bacillus subtilis* รหัส B 525

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	6.3×10^5	2.9×10^5	7.3×10^5	5.5×10^5
6	5.3×10^8	2.3×10^8	4.1×10^8	3.9×10^8
10	4.8×10^9	5.4×10^9	3.9×10^9	4.7×10^9
24	8.2×10^9	7.1×10^9	5.3×10^9	6.9×10^9
30	9.4×10^9	7.7×10^9	6.7×10^9	7.8×10^9
Product	1.8×10^6	6.4×10^5	2.1×10^6	1.5×10^6

ปริมาณเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

Time	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	ค่าเฉลี่ย
0	7.2×10^5	4.6×10^5	2.9×10^5	4.9×10^5
6	8.3×10^7	5.5×10^8	2.1×10^8	2.8×10^8
10	3.9×10^9	1.1×10^9	6.3×10^9	3.8×10^9
24	5.2×10^9	4.3×10^9	7.3×10^9	5.6×10^9
30	8.3×10^9	3.7×10^9	5.4×10^9	5.8×10^9
Product	1.1×10^5	5.7×10^4	1.1×10^4	5.9×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การคำนวณทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข1 แสดงการคำนวณทางสถิติของปริมาณเชื้อ Baillus subtillis ในแต่ละการทดลอง

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
BACILLUS	Between Groups	.471	3	.157	1.964	.198
	Within Groups	.640	8	.08		
	Total	1.111	11			

ตารางที่ ข2 แสดงการคำนวณทางสถิติของปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria ในแต่ละการทดลอง

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
LACTIC	Between Groups	3.352	3	1.117	4.086	.049
	Within Groups	2.188	8	.273		
	Total	5.540	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะมัยเลสและโปรติเอส

ค1. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์อะมัยเลส (Bottle และคณะ,1958)

สารเคมี

3,5 Dinitrosalicylic acid (DNS)

Sodium hydroxide

Potassium sodium tartate

Soluble starch

Sodium dihydrogen phosphate

Sodium hydrogen phosphate

Glucose

Toluene

อุปกรณ์

Spectrophotometer

PHmeter

เครื่องชั่งน้ำหนัก

Vortex mixer

Water bath

Centrifuge

วิธีการวิเคราะห์

1. การสกัดเอนไซม์
   1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ใส่ในฟลาสก์ 250มล. เติม0.2M phosphate buffer pH7.0 จำนวน50มล. เขย่าที่ 150rpm นาน40 นาที
   1.2 เติมโทลูอีน0.1มล.ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 16 ชั่วโมง นำมาเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm นาน 10 นาที เก็บส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์
2. การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส
   2.1 เตรียมสารละลาย DNS โดยละลาย 3,5 Dinitrosalicylic acid จำนวน1 กรัม ใน 2.0 N NaOH จำนวน20 มล.
   2.2 เติม Potassium sodium tartate จำนวน 30 กรัม ปรับปริมาตรเป็น100 มล. ด้วยน้ำกลั่น
   2.2 ปิเปตน้ำกลั่น และสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 5 ไมโครโมล/มล. ตามตารางข้างล่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดที่	1	2	3	4	5
น้ำกลั่น(มล.)	0.8	0.6	0.4	0.2	0
สลล.กลูโคส 5ไมโครโมล/มล.(มล.)	0.2	0.4	0.6	0.8	1

2.3 เติมสารละลาย DNS1 มล. ลงในแต่ละหลอด นำไปต้มในอ่างน้ำเดือดนาน3 นาที แล้วรีบทำให้เย็น โดยแช่ในน้ำเย็น

2.4 เติมน้ำกลั่น10 มล.เขย่าให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างการดูดกลืนแสงกับปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส

3. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ในตัวอย่าง

3.1 เติมสารละลายเอนไซม์เจือจางในระดับที่เหมาะสม 0.5 มล. ลงในหลอดทดลองบ่มที่ 37°ซ. นาน5 นาที ใน Water bath

3.2 เติม Soluble starch1% ใน0.05M phosphate buffer pH7.0 ปริมาตร0.5 มล. บ่มที่37°ซ. นาน30 นาที ในWater bath

3.3 หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย DNS 1 มล. ลงในแต่ละหลอด นำไปต้มในอ่างน้ำเดือดนาน 3 นาที แล้วรีบทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำเย็น

3.4 เติมน้ำกลั่น10 มล. เขย่าให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

การคำนวณ

หน่วยเอนไซม์อะมัยเลส หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสับสเตรตและให้น้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 37°ซ. PH 7.0

∴ กิจกรรมของเอนไซม์อะมัยเลส(หน่วย/กรัม)

$$= \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง x ปริมาตรสลล.เอนไซม์ทั้งหมด x ระดับเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน x เวลา x จำนวนกรัมตัวอย่าง}}$$

หมายเหตุ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างต้องอยู่ระหว่าง 0.2 ถึง 0.8

ค2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (Walterและคณะ,1984)

สารเคมี

L-Tyrosine

Tris (hydroxymethyl) aminometane 0.1M

Hydrochloric acid 0.1M

สารละลายเคซีน 0.5%ใน0.1M Tris-HCL Buffer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.3M Trichloroacetic acid

Toluene

0.2M Acetate Buffer

อุปกรณ์

เครื่องCentrifuge

Spectrophotometer

PHmeter

เครื่องชั่งน้ำหนัก

Vortex mixer

Water bath

วิธีการวิเคราะห์

1. การสกัดเอนไซม์
   1.1 ชั่งตัวอย่าง10 กรัม ใส่ในฟลาสก์250 มล. เติม0.2M Acetate Buffer pH 5.0 จำนวน50 มล.เขย่าที่ 150 rpm นาน40 นาที
   1.2 เติมโทลูอีน 0.1 มล.ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ.นาน16 ชั่วโมง นำมาเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ10,000rpm นาน10 นาที เก็บส่วนใสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์
2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน Tyrosine
   2.1 เตรียมสารละลาย Tyrosine ความเข้มข้น 10 20 40 50 60 80 ไมโครกรัม/มล. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 275 นาโนเมตร
   2.2 นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างการดูดกลืนแสงกับปริมาณ Tyrosine
3. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ในตัวอย่าง
   3.1 เติมสารละลายเคซีน0.5% ใน0.1M Tris-HCL Buffer pH7.1 ปริมาตร 5 มล. ลงในหลอดทดลอง บ่มที่ 37°ซ. นาน5 นาที ใน Shaking Water bath
   3.2 เติมสารละลายเอนไซม์เจือจางที่เหมาะสม 1.0 มล. ลงในหลอดทดลอง บ่มที่37°ซ. นาน 10 นาที ใน Shaking Water bath
   3.3 หยุดปฏิกิริยาด้วยการเติมสารละลาย 0.3M Trichloroacetic acid 5 มล. ลงในแต่ละหลอด
   3.4 เหวี่ยงที่ความเร็ว 3,500รอบ/นาที นาน 10 นาที กรองด้วยกระดาษกรองWhatman No.2 ก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 นาโนเมตร โดยใช้ TCA เป็นBlank

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

หน่วยเอนไซม์โปรติเอส หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสับสเตรท และให้ Tyrosine 1 ไมโครกรัม ภายในเวลา 1 นาที ภายใต้อุณหภูมิ 37 °ซ. pH7.1

∴ กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส (หน่วย/กรัม)

$$= \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง x ปริมาตรสลล.เอนไซม์ทั้งหมด x ระดับเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน x เวลา x จำนวนกรัมตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์เอนไซม์ โปรติเอส และ อะมัยเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์เอนไซม์ โปรติเอส

ตารางที่ ง1 ปริมาณเอนไซม์ โปรติเอสของกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave ชั่วโมงที่ 24

เชื้อ	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณเอนไซม์
LAB+B 522	0.322	0.347	0.358	0.340	2.394
LAB+B 525	0.393	0.273	0.403	0.356	2.507

ตารางที่ ง2 ปริมาณเอนไซม์ โปรติเอสของกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ Autoclave ชั่วโมงที่ 30

เชื้อ	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณเอนไซม์
LAB+B522	0.529	0.521	0.534	0.528	3.718
LAB+B525	0.571	0.541	0.537	0.550	3.873

ตารางที่ ง3 ปริมาณเอนไซม์ โปรติเอสของกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบนึ่ง ชั่วโมงที่ 24

เชื้อ	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณเอนไซม์
LAB+B 522	0.365	0.293	0.356	0.338	2.3803
LAB+B 525	0.379	0.361	0.359	0.366	2.577

ตารางที่ ง4 ปริมาณเอนไซม์ โปรติเอสของกากถั่วเหลืองที่ให้ความร้อนแบบ นึ่ง ชั่วโมงที่ 30

เชื้อ	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ค่าเฉลี่ย	ปริมาณเอนไซม์
LAB+B 522	0.395	0.403	0.404	0.401	2.824
LAB+B 525	0.462	0.477	0.463	0.467	3.289

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาว วรินญา จารุทรรศน์พิมล เกิดวันที่ 23 มีนาคม พ.ศ. 2524 จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนสายปัญญา(ในพระบรมราชินูปถัมภ์) จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปีการศึกษา 2541 และสำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร) ในปีการศึกษา 2545

นางสาว วิริยา นันทวุฒิกุล เกิดวันที่ 31 มกราคม พ.ศ. 2524 จังหวัดยะลา สำเร็จการศึกษาระดับชั้นมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปีการศึกษา2541 และสำเร็จการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต (วิศวกรรมแปรรูปอาหาร) ในปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้