20370

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

สภาวะที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองเป็นอาหารสัตว์

(Optimum Condition for Fermented of Soybean Residue as Animal Feed)

เรื่อง

จัดทำโดย

นางสาว ทัศนียา จำเริญสุข และ นางสาว ดิวพร พุดตาล

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 22 ธ.ค. 48 ..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ร.ศ.ดร.วรวุฒิ ดวงสา)

ปพ.
ท367ส
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....36570
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทัศนียา จำเริญสุข ศิวพร พุดตาล.2547.สภาวะที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองเป็นอาหารสัตว์ (Optimum Condition for Fermented of Soybean Residue as Animal Feed) โครงการคณะอุตสาหกรรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

กากถั่วเหลือง เป็นผลพลอยได้ของกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง สามารถใช้เป็นวัตถุดิบกระบวนการหมักเป็นอาหารสัตว์ได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มมูลค่าของกากถั่วเหลืองโดยการนำกากถั่วเหลืองมาผ่านกระบวนการหมักโดยใช้แบคทีเรียแลคติก 3 ชนิด คือ *Pediococcus sp.*, *Lactobacillus plantarum* , *L. plantarum* 48 และแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 ชนิดผสมกัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่า การหมัก กากถั่วเหลืองแบบไม่นึ่งฆ่าเชื้อและควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองด้วยการปิดฟอยล์ ผสมกากน้ำตาล 8 % และ ใช้เชื้อผสมที่ 20 % ให้ผลดีที่สุด คือ มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ความเป็นกรดด่างลดลง และจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงกว่า เมื่อใช้แบคทีเรียแลคติกชนิดเดียว และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ ได้แก่ ความชื้น ไขมัน โปรตีน และเยื่อใย พบว่า มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักและมีค่า สูงกว่ากากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

ศิวพร พุดตาล ..... ทัศนียา จำเริญสุข .....
ลายมือชื่อนักศึกษา

..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

22 ธ.ค. 48 .....
วัน/ เดือน/ ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยฝ่ายอุตสาหกรรม โครงการโครงงานอุตสาหกรรมสำหรับปริญญาตรีประจำปี 2547 และขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้อมูลทางด้านทฤษฎี คำปรึกษา เอื้อเฟื้อสถานที่ปฏิบัติงานและเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำปัญหาพิเศษ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ให้ความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ

และที่สำคัญโครงงานนี้จะสำเร็จลุล่วงไปไม่ได้เลย ถ้าขาดผู้ปกครองและผู้มีพระคุณทุกๆ ท่าน ซึ่งเป็นผู้มีพระคุณสูงสุดที่ได้ให้การศึกษาและเป็นกำลังใจในการทำงานมาโดยตลอด

กณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	จ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	4
3. อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	14
4. ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง	23
5. สรุปผลและข้อเสนอแนะ	30
เอกสารอ้างอิง	31
ภาคผนวก	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.	%โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต ต่อน้ำหนักแห้งของโอคารา	4
2.	องค์ประกอบ เกลือแร่ และวิตามิน ที่พบในโอคาราที่เตรียมจากถั่วเหลือง 3 สายพันธ์	5
3.	แสดงปริมาณกรดทั้งหมด ในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติก	28
4.	แสดงจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติก	28
5.	แสดงองค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ (%) ของกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักแบบไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์ เติมแบคทีเรียแลคติกที่ 20% และเติมกากน้ำตาล 8%	29
6.	แสดงความเป็นกรดด่าง ในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลือง โดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติก เป็นระยะเวลา 5 วันทุกๆ 24 ชั่วโมง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปภาพที่		หน้า
1.	ขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลือง	2
2.	สภาวะการเจริญของแบคทีเรียแลกติกภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย (microaerophilic) จนถึงสภาวะไม่มีอากาศ (strictly anaerobic)	7
3.	วิถี homofermentative และ heterofermentation ของแบคทีเรียแลกติก	8
4.	กลไกการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยแบคทีเรียแลกติก	9
5.	แผนผังของการจำแนกกลุ่มอาหารสัตว์	13
6.	เชื้อจุลินทรีย์ในกากถั่วเหลืองก่อนผ่านกระบวนการหมัก หลังผ่านการย้อมแกรม	23
7.	ปริมาณกรดทั้งหมด ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ	24
8.	จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ระหว่าง กากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ	24
9.	ปริมาณกรดทั้งหมด ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่างๆ ที่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์	25
10.	จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติก ต่างๆ ที่ 5 10 15 20 เปอร์เซ็นต์	26
11.	ปริมาณกรดทั้งหมดที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่งฆ่าเชื้อกากถั่วเหลือง และไม่เติมแบคทีเรียแลคติก	26
12.	จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่งฆ่าเชื้อกากถั่วเหลืองและไม่เติมแบคทีเรียแลคติก	27
13.	ความเป็นกรดด่าง ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ	34
14.	ความเป็นกรดด่าง ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่งที่มี การเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่างๆ ที่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซนต์	35
15.	ความเป็นกรดด่าง ที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่งฆ่าเชื้อกากถั่วเหลือง และไม่เติมแบคทีเรียแลคติก	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพที่ หน้า

16. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L.plantarum* (10^{-5}) เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

17. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

18. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L.plantarum*48 (10^{-5}) เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

19. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L.plantarum*48 (10^{-5}) เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

20. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

21. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *Pediococcus sp.*(10^{-5}) เวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์ 37

22. โคโลนีแบคทีเรียแลคติก เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 2 เปอร์เซ็นต์ 38

23. โคโลนีแบคทีเรียแลคติก เวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 4 เปอร์เซ็นต์ 38

24. โคโลนีแบคทีเรียแลคติก เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 6 เปอร์เซ็นต์ 38

25. โคโลนีแบคทีเรียแลคติก เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 8 เปอร์เซ็นต์ 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพที่ หน้า

26. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5}) 39
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

27. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 39
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

28. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง+ *L. plantarum* 48 (10^{-5}) 39
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

29. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5}) 39
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

30. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *Pediococcus sp.*(10^{-5}) 40
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

31. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5}) 40
เวลา 72 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

32. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5}) 40
เวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

33. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง+ *L. plantarum* 48 (10^{-4}) 41
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

34. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 41
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

35. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-4}) 41
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพที่ หน้า

36. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 41
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

37. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5}) 41
เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

38. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5}) 42
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

39. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 42
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

40. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-4}) 42
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

41. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *Pediococcus sp.* (10^{-5}) 42
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

42. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 42
เวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

43. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-4}) 43
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

44. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 43
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

45. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 43
เวลา 0 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปภาพที่ หน้า

46. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5}) 43
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

47. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5}) 43
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

48. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 43
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

49. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5}) 44
เวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

50. โคโลนีแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-4}) 44
เวลา 96 ชั่วโมง ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่นิยมบริโภคและนำไปใช้ประโยชน์ในประเทศแถบเอเชีย เนื่องจากถั่วเหลืองมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีราคาต่ำกว่าเนื้อสัตว์ อีกทั้งยังสามารถย่อยได้ง่ายกว่าเนื้อสัตว์(ณัชชา,2545) ถั่วเหลืองนอกจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูงแล้ว ถั่วเหลืองยังมีสารพฤกษเคมี (phytochemical) ที่ช่วยป้องกันและรักษาโรค เช่น สารเลซิติน ซึ่งเชื่อว่าช่วยเสริมสร้างประสาท บำรุงต่อมไร้ท่อ สารซาโพนิล ช่วยควบคุมปริมาณโคเลสเตอรอล ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสและเป็นสารต่อต้านมะเร็ง ในปัจจุบันการบริโภคถั่วเหลืองนอกจากบริโภคสดในรูปฝักถั่วเหลืองต้มแล้ว ยังนำมาบริโภคในรูปน้ำนมถั่วเหลือง เต้าหู้และเต้าฮวย หรือนำมาหมักเป็นเต้าเจี้ยว ซีอิ๊ว และมีการผลิตเป็นแป้งถั่วเหลือง ถึงแม้ว่าถั่วเหลืองมีโปรตีนอยู่สูงแต่เมื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง โปรตีนจะลดลง เพราะโปรตีนส่วนหนึ่งจะอยู่ในส่วนของกากถั่วเหลือง นอกจากโปรตีนแล้ว ถั่วเหลืองนั้นยังเป็นแหล่งแคลเซียมที่สำคัญอีกด้วย โดยจะมีแคลเซียมอยู่ปริมาณ 240 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม แต่เมื่อนำถั่วเหลืองมาแปรรูปเป็นน้ำนมถั่วเหลือง แคลเซียมจะมีประมาณ 18 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนปริมาณแคลเซียมที่เหลือส่วนมากจะมาอยู่ในส่วนของกากถั่วเหลือง จะเห็นว่ากากถั่วเหลืองยังมีคุณค่าทางอาหารอยู่ แต่คนส่วนใหญ่จะเข้าใจว่ากากถั่วเหลืองไม่มีคุณค่าทางทางอาหารแล้ว (สุกัญญา,2544)

ในกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองไม่ว่าจะใช้วิธีการผลิตโดยวิธีใดจะมีกากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้เสมอ มีขั้นตอนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองแสดงดังภาพที่ 1 ซึ่งตามปกติแล้วกากถั่วเหลืองนี้จะถูกทิ้งไปซึ่งถ้าระบบการกำจัดไม่ดีพอจะก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสุขลักษณะของโรงงานตามมาทันที เช่นก่อให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์เป็นแหล่งของแมลงวันและเชื้อโรคต่างๆ เป็นต้น ในขณะที่ส่วนอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ถือว่าถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญที่สุดในโลก การใช้ถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ในปัจจุบันความต้องการกากถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ของประเทศไทยตกปีละประมาณ 1.6 ล้านตัน คิดเป็นเมล็ดถั่วเหลืองถึง 2 ล้านตัน แต่ประเทศไทยสามารถผลิตถั่วเหลืองได้เพียงปีละ 5 แสนตัน จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา จีน อาร์เจนตินา และบราซิล ในรูปของกากถั่วเหลืองปีละกว่า 1 ล้านตัน กากถั่วเหลืองเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์หลายชนิดที่สำคัญได้แก่ ไก่กระทง ไก่สายพันธุ์พ่อแม่ ไก่ไข่ สุกร เป็ดเนื้อ เป็ดไข่ วัว กุ้งและปลา โดยใช้กากถั่วเหลือง 5 – 20 เปอร์เซ็นต์ของอาหารส่วนประกอบที่เหลือได้แก่ ข้าวโพด ปลาป่น และอื่นๆ และเนื่องจากปลาป่นมีราคาแพง การที่ผู้เลี้ยงสัตว์หรือผู้ผลิตอาหารสัตว์สามารถใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนแทนปลาป่นได้มากเท่าไรยิ่งเป็นการประหยัดต้นทุน (คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2542)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักอาหารสัตว์โดยใช้กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบต้องมีการตรวจหา Urease Activity ในกากถั่วเหลือง ซึ่งการพบ Urease residue จะเป็นตัวบ่งชี้ว่าต้องพบสารพวก Trypsin Inhibitor ด้วย เพราะสารสองตัวนี้มีคุณสมบัติ เหมือนกันในการทนความร้อนซึ่งจะพบมากในกากถั่วเหลืองที่ไม่สุก แต่กากถั่วเหลืองที่ได้จากการผลิตนมถั่วเหลืองจากกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองได้ผ่านความร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส อย่างสม่ำเสมอ ถั่วจึงสุกโดยทั่วกันจึงไม่พบ Urease residue (แพรวาและคณะ, 2527)

ภาพที่ 1 ขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลือง
ที่มา : สุกัญญา (2544)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองเป็นอาหารสัตว์

2. เพื่อนำกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นของเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมเกษตรมาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาผลิตเป็นอาหารสัตว์

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ขอบเขตของการวิจัยนี้ครอบคลุมเนื้อหาของการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตอาหารสัตว์จากกากถั่วเหลืองหมัก โดยการนำกากถั่วเหลืองที่เป็นของเหลือใช้จากโรงงานผลิตนมถั่วเหลืองซึ่งยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูงมาใช้ให้เป็นประโยชน์ สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหาร โดยแบคทีเรียแลกติกสามารถนำกากถั่วเหลืองมาใช้ในการเจริญและใช้ผลิตสารช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคให้กับสัตว์ได้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 กากถั่วเหลือง (Okara)

โอคาราหรือกากถั่วเหลืองเป็นส่วนที่ไม่ละลายน้ำ ที่ได้จากกระบวนการกรองแยกน้ำนมถั่วเหลือง เป็น by product ของกระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองและเต้าหู้ จากการรายงานของ O'Tool (1999) ในโอคาราแห้งจะประกอบด้วยโปรตีน 25.4 – 28.4 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 9.3 – 10.9 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ 40.2 – 43.6 เปอร์เซ็นต์ ใยอาหารที่ละลายน้ำ 12.6 – 14.6 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ 40.2 43.6 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับในรายงานของ Hackler และคณะ (O'Tool,1999) รายงานว่า ในการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง 1 ปอนด์ จะได้โอคาราประมาณ 1.1 ปอนด์ มีความชื้น 76 – 80 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 3.5 – 4.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อเป็นของแห้งจะประกอบด้วยโปรตีน 23.6 – 24.0 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 8.1 – 15.2 เปอร์เซ็นต์ แสดงผลเปรียบเทียบองค์ประกอบโดยประมาณที่มีผู้ทำการทดลองไว้ดังตารางที่ 1 และตารางที่ 2 ณัชชา(2545)

ตารางที่ 1 เปอร์เซนต์โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต ต่อน้ำหนักแห้งของโอคารา
ที่มา : ณัชชา (2545)

โปรตีน	ไขมัน	ใยอาหาร	คาร์โบไฮเดรต	อ้างอิง
24.0 (18.2-32.2)	15.2 (6.9 - 22.2)	14.5 (9.1 - 18.6)	–	Broune al.(1976)
25.4 - 28.4	9.3 - 10.9	52.8 - 58.1	3.8 - 5.3	Van der et al. (1989)
26.8 ± 1.0	22.3 ± 1.5	–	–	Guermani et al. (1992)
26.8	12.3	–	52.9	Ma et al. (1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 องค์ประกอบ เกลือแร่ และวิตามิน ที่พบในโอคาราที่เตรียมจากถั่วเหลือง 3 สายพันธุ์ (ต่อน้ำหนักแห้ง)*

ที่มา : ณัชชา (2545)

Proximate Composition, g/100g							
Cultivar	Protein[a]	Oil	CHO	Phytic Acid	Insoluble Fiber	Soluble Fiber	Total Fiber
Edgar	28.4	9.6	5.3	12.6	42	14.6	56.6
Hutton	25.4	10.9	3.8	1.2	43.6	14.5	58.1
Prima	26.2	9.3	4.6	0.9	40.2	12.6	52.8

[a]Kjeldahl nitrogen x 5.71

Minerals and Vitamins, mg/100g							
Cultivar	Ash	Ca	Mg	Fe	Na	K	Cu
Edgar	3200	260	163	6.2	16.2	1046	1.1
Hutton	3700	428	158	7.2	19.1	1094	1.1
Prima	3200	286	165	8.2	18.4	1233	1.2
	Zn	Mn	P	Thiamin	Riboflavin	Nicotinic Acid	
Edgar	3.8	2.5	396	0.59	0.04	1.01	
Hutton	3.5	3.1	444	0.49	0.03	0.82	
Prima	6.4	2.3	407	0.48	0.03	1.04	

*O'Toole (1999)

นอกจากโอคาราจะอุดมไปด้วยใยอาหารแล้ว ยังประกอบด้วยโปรตีนคุณภาพดีอีกด้วย O'Tool,1999 ได้รายงานถึงการวิเคราะห์ค่า protein efficiency ration (PER) พบว่าโอคารามีค่า PER สูงถึง 2.71 ในขณะที่ถั่วเหลืองมีค่า PER 2.51 เต้าหู้ 2.20 และน้ำนมถั่วเหลือง 2.11 จะเห็นได้ว่าในโอคารามีอัตราส่วนของโปรตีนที่มีคุณภาพสูงอยู่ ณัชชา(2545)

นอกเหนือประโยชน์จากโปรตีนในโอคาราแล้ว Maeda และคณะ (1998) ได้ทำการแยก hemicellulose ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สามารถละลายน้ำได้ โดยคาร์โบไฮเดรตที่ผลิตได้เมื่อใช้ในการเพิ่มความหนืดในสารละลายจะให้ความหนืดของสารละลายต่ำ ซึ่งมีการนำ hemicellulose ที่แยกได้นี้มาใช้ในการเพิ่มความคงตัวของโปรตีนในสภาวะที่เป็นกรด เช่นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว ทางด้านผลิตภัณฑ์หมัก มีการใช้โอคาราในการผลิตอาหาร เช่น natto และ tempe ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพเช่นเดียวกับการผลิตจากถั่วเหลืองเมล็ด นอกจากการผลิตเป็นอาหารแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการหมักโอคาราด้วยจุลินทรีย์บางชนิดยังได้ผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น สารที่มีคุณสมบัติเป็น antioxidant Iturin A ซึ่งมีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อราจากโรคพืชได้ okaramine A และ B ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นยาฆ่าแมลง surfactin ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว การผลิตกรดซิตริก มีการใช้โอคาราในการลดต้นทุนในอาหารสัตว์ โดยใช้ในการเลี้ยงหนอนไหม ทำให้ตัวอ่อนเจริญดีและไม่มีโรค นอกจากนี้ในญี่ปุ่นยังมีการใช้โอคารา ในการเพิ่มความคงทนในผลิตภัณฑ์เซรามิกด้วย ณัชชา(2545)

2.2 การใช้ประโยชน์

ในปัจจุบันมีการใช้โอคาราเป็นอาหารสัตว์ ใช้เลี้ยงไหม ใช้เป็นสารเพิ่มความแข็งแรงในผลิตภัณฑ์เซรามิก ใช้ทำอาหารหมัก เช่น นัตโต โคจิ เทมเป หรือเติมในผลิตภัณฑ์อาหารขนมอบ ผลิตบิสกิต snack bar การแยกโพลีแซคคาไรด์ที่สามารถละลายน้ำได้เพื่อนำมาผลิตเป็นสาร emulsifier นอกจากนี้ยังมีการผลิตผลิตภัณฑ์ในรูปสารที่ได้จากการหมักเพื่อเป็นสารฆ่าเชื้อรา มีผลในการต้านโรคในพืช การผลิตสารลดแรงตึงผิว การผลิตกรดซิตริก ณัชชา(2545)

ได้มีการทำวิจัยเพื่อนำกากถั่วเหลืองไปใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น Yukie (2000) รายงานว่าอาหารเพื่อสุขภาพที่มีส่วนประกอบหลักคือกากถั่วเหลือง โดยนำกากถั่วเหลืองใส่ในหม้อที่มีความดันไอน้ำ และเติม alkaline ion ต้มจนเดือด จากนั้นทำให้เย็น เติมน้ำตาล และนำเข้าเครื่องผสม และเติมไคโตซานแล้วจึงทำการผสมต่อ ทำให้เย็น เติมโยเกิร์ตและครีมสด ผสมให้เข้ากันและถ่ายใส่ภาชนะ นำไปบ่ม เมื่อได้ที่นำไปเก็บในตู้เย็น Mariko (1988) กล่าวถึงการทำชากากถั่วเหลือง โดยนำกากถั่วเหลืองมาทำให้แห้งที่ 40 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 ชั่วโมง และอบที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส นาน 20 – 30 นาที เพื่อนำมาทำเป็นชากากถั่วเหลือง Khachatrjan (2001) รายงานถึงวิธีการผลิตวัอดก้าจากกากถั่วเหลือง โดยนำกากถั่วเหลืองมาใช้แทนแป้งซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวัอดก้า และ Ueda และคณะ (1997) ศึกษาการผลิตกระดาษจากกากถั่วเหลือง โดยนำกากถั่วเหลืองไปผลิตเป็นกระดาษ โดยโปรตีนในกากถั่วเหลืองจะช่วยให้เยื่อกระดาษมีความแข็งแรงมากขึ้น

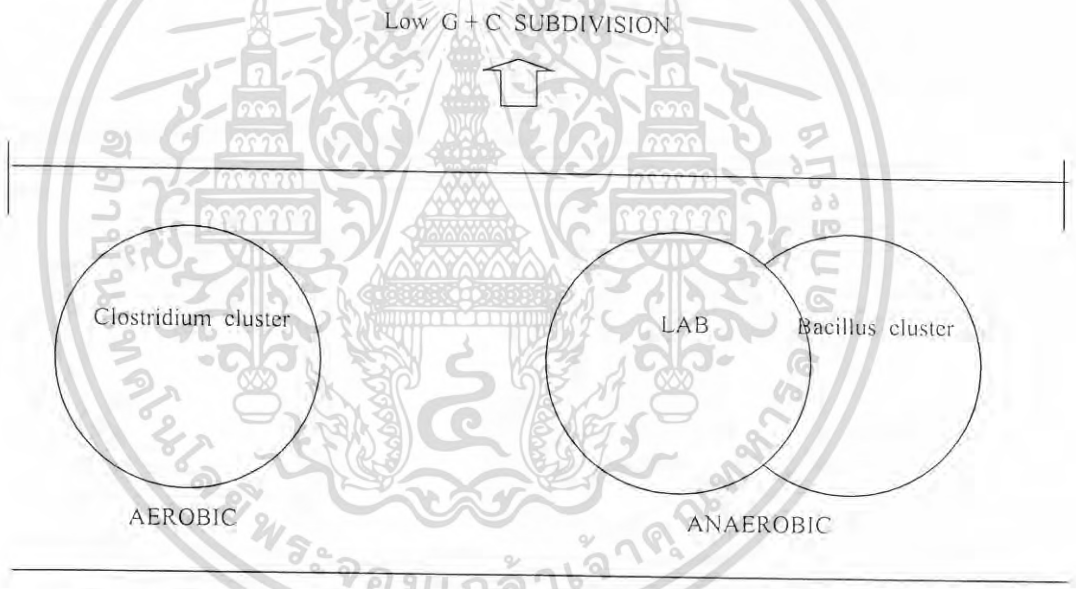
2.3 การหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์

การทำน้ำนมถั่วเหลืองจะทำการแยกส่วนที่เป็นของเหลว โอคาราที่เหลืออยู่จะมีความชื้นสูง รวมทั้งมีปริมาณโปรตีนสูง ทำให้เน่าเสียอย่างรวดเร็ว ซึ่งปริมาณน้ำจะขึ้นอยู่กับการคั้นน้ำออกจากกาก โอคาราจะเน่าเสียอย่างรวดเร็วเพราะมี water activity สูง Kato และคณะ (1986) จึงพยายามที่จะหาวิธีป้องกันการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ โดยใช้ lactic acid bacteria การเติมโยเกิร์ตและ dried lactic acid acteria 10^6 / กรัม ลงในโอคาราโดยอาจเติมหรือไม่เติมกลูโคส 1% โดยทำการทดสอบเก็บในสภาวะที่มีอากาศและสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย (facultatively anaerobic) ในสภาวะที่มีอากาศโอคาราจะเกิดการเน่าเสียอย่างรวดเร็ว ถ้าเก็บโอคาราในถุง polyethylene หรือขวด screw – cap ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะเกิดการหมักเกิดกรดแลคติก ทำให้ค่า pH ของโอคาราลดลงต่ำกว่า 4.2 ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้ 4 วันหรือนานกว่านั้น การใช้เชื้อเริ่มต้นเป็นนอกจากนี้ยังมีการเก็บในรูปของโอคาราแห้งที่ผ่านการอบโดยใช้ลมร้อน ทำให้สามารถเก็บโอคาราได้นานยิ่งขึ้น dried lactic acid bacteria โดยเฉพาะการใช้ *Lactobacillus plantarum* จะดีกว่าการใช้โยเกิร์ต และพบว่าการที่จะป้องกันการเสื่อมเสียด้วยวิธีนี้จะป้องกันได้ดีเมื่อใช้ dried lactic acid bacteria 10^9 / กรัม ลงในโอคาราที่มีกลูโคส 1% และบ่มที่ 30 - 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อย ณัชชา(2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

แบคทีเรียแลกติก (Lactic Acid Bacteria : LAB) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) ที่เจริญเติบโตภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย (microaerophilic) จนถึงสภาวะไม่มีอากาศ (strictly anaerobic) ทั้งนี้แสดงในภาพที่ 2 ไม่สร้างสปอร์ (non-sporulating) สามารถหมักคาร์โบไฮเดรตได้เป็นผลิตภัณฑ์พวกแลกเตต (lactate) แบคทีเรียแลกติกที่มีรูปร่างกลม ได้แก่ *Lactococcus, Vagococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Aerococcus, Tetragenococcus, Streptococcus* และ *Enterococcus* ส่วนแบคทีเรียแลกติกที่มีรูปร่างเป็นท่อน ได้แก่ *Lactobacillus, Carnobacterium* และ *Bifidobacterium* (Pongsak and Parichat, 2000) นอกจากนั้นแบคทีเรียแลกติกยังสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มตามผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักได้แก่ homofermentative ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลกติกด้วยวิถีไกลโคไลติก (glycolytic pathway) และ heterofermentative ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียแลกติกที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลกติก เอธานอล กรดอะซีติก และคาร์บอนไดออกไซด์ด้วยวิถีฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase pathway) ทั้งนี้ ดังแสดงในภาพที่ 3

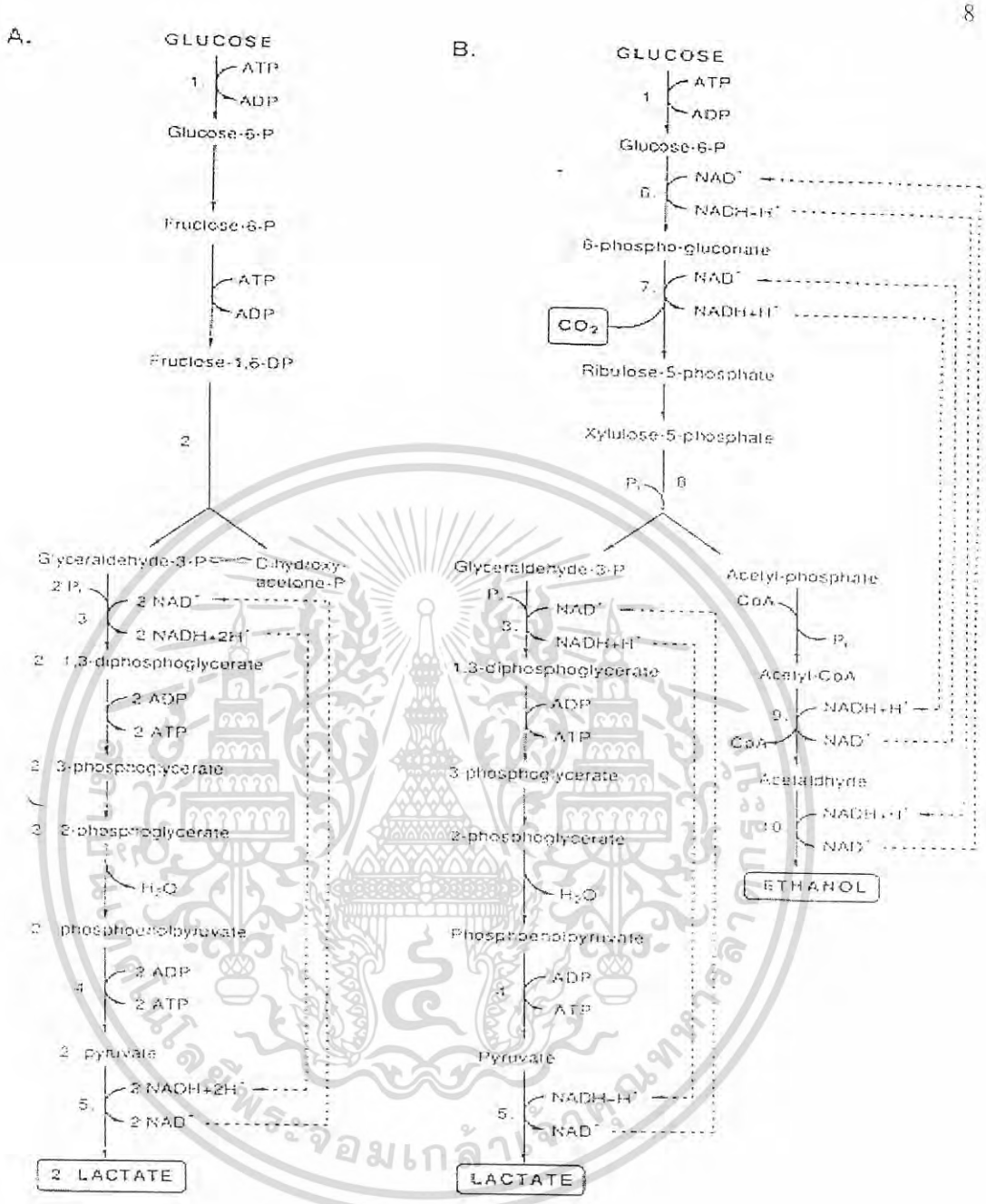


Schematic representation of the phylogenetic position of lactic acid bacteria in relation to anaerobic and aerobic genera of the low G + C subdivision of G^+ bacteria

ภาพที่ 2 สภาวะการเจริญของแบคทีเรียแลกติกภายใต้สภาวะมีอากาศเล็กน้อย (microaerophilic) จนถึงสภาวะไม่มีอากาศ (strictly anaerobic)

ที่มา : Salminen และ Von Wright (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 วิถี homofermentative และ heterofermentation ของแบคทีเรียแลกติก

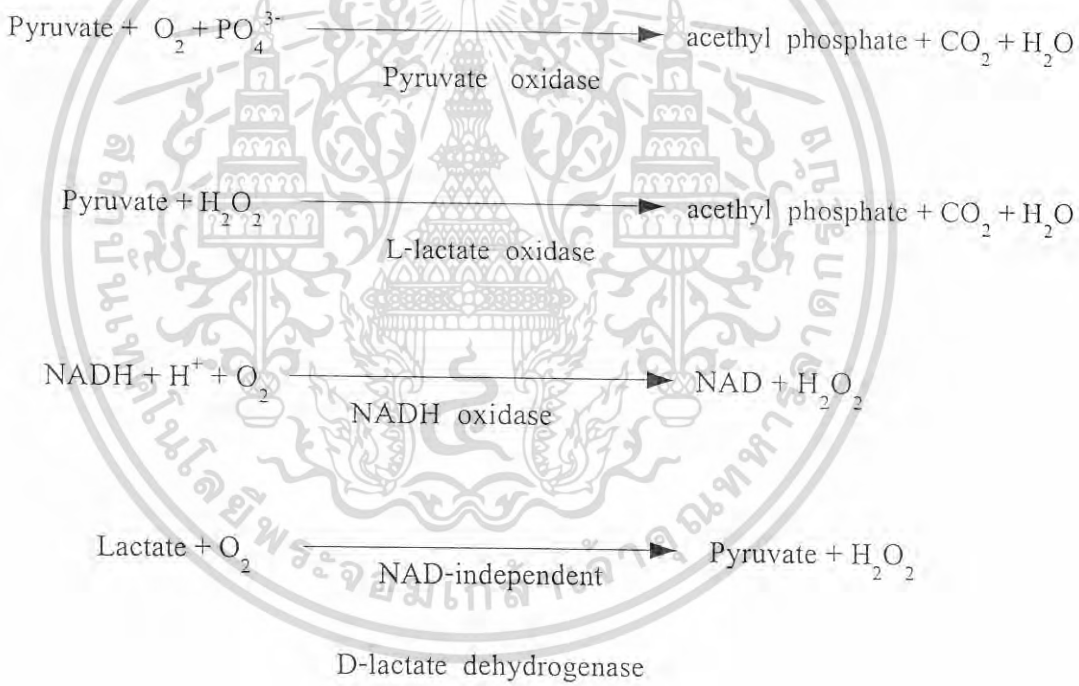
ที่มา : Salminen และ Von Wright , A. (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารยับยั้งที่แบคทีเรียแลกติกสร้างขึ้น ได้แก่

2.4.1. กรดอินทรีย์ (organic acid) กรดอินทรีย์ที่ Lactic Acid Bacteria สร้างขึ้นที่สำคัญ ได้แก่ กรด แลกติก (lactic acid) กรดอะซีติก (acetic acid) จากกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต 2 ชนิดมีผลทำให้ค่าพีเอชของอาหารเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญและให้การยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ด้วย โดยกรดอินทรีย์ดังกล่าวจะมีผลต่อเซลล์เมมเบรนทำให้ electrochemical potential เป็นกลาง กรดอะซีติกทำให้โปรตีนในเซลล์เสียสภาพธรรมชาติ และทำให้ค่า พีเอชภายในเซลล์ (intracellular pH) ของ *Clostridium acetobutylicum* ลดลง นอกจากนี้ (Corsetti และคณะ,1998) พบว่า *Lactobacillus sanfrancisco* CB1 สามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา (antimould compounds) ซึ่งเป็นส่วนผสมของกรดอินทรีย์หลายชนิด ได้แก่ กรดอะซีติก กรดคาโพรอิก กรดฟอร์มิก กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดเอ็นวาเลอริก (n-valeric) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย เช่น *Fusarium, Penicillium, Aspergillus* และ *Monilia* ในการผลิต Sourdough fermentation ได้

2.4.2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) Lactobacilli สร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ในระหว่างการเจริญเติบโตโดยมีการสร้างที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 4 กลไกการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์โดยแบคทีเรียแลกติก

ที่มา : Mark (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus* สามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ เนื่องจากไม่สามารถสร้างเอนไซม์ คะตะเลส (catalase) ซึ่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น เช่น *Straphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* spp. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำหน้าที่เป็น precursor ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอื่นและเกิดเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น ในน้ำนมดิบ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกจะทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate และถูกเร่งปฏิกิริยาด้วย lactoperoxidase เกิดการยับยั้งจุลินทรีย์อื่นได้ กระบวนการนี้เรียกว่า lactoperoxidase antibacterial system ซึ่งเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบที่ไม่ได้แช่เย็น (Mark, 1989)

2.4.3. ไดอะเซทิล (diacetyl ; 2,3-butanedione; dimethyl diketone; 2,3 diketobutane) เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายในกระบวนการสังเคราะห์ pyruvate ของแบคทีเรียแลกติก สายพันธุ์ที่สามารถสร้างไดอะเซทิล ได้แก่ *Lactococus, Leuconostoc, Streptococcus, Pediococcus* และ *Lactobacillus* ซึ่งไดอะเซทิลนั้นเป็นที่ทราบกันอย่างดีว่าก่อให้เกิดกลิ่น buttery ในผลิตภัณฑ์นมหมัก (Mark, 1989) แต่ไดอะเซทิลยังก่อให้เกิดผลการยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ด้วย (Jay, 1982) พบว่าปริมาณไดอะเซทิล 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบ และปริมาณ 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช่กลุ่มของแบคทีเรียแลกติกได้

2.4.4. แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) แบคทีเรียแลกติกจะผลิต ribosomally synthesized antimicrobial peptides เรียกว่า แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็น bioactive peptides หรือ โปรตีนที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดได้ ซึ่งมีผลโดยตรงต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (spoilage microorganisms) และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (food borne pathogens) เช่น *B. cereus, Cl. Botulinum, Stap. aureus, Listeria monocytogenes* (Lejeune และคณะ, 1998) , *A. hydrophila* และ *Micrococcus luteus* (Halami และคณะ, 2000) กลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตแบคเทอริโอซินนั้นส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแลกติก ได้แก่ *Carnobacterium, Enterococcus, Lactococcus, Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus* และ *Weissella* (Halami และคณะ, 2000)

Klaenhammer (1993) แบ่งแบคเทอริโอซินออกเป็น 4 ชนิด ตามลักษณะโครงสร้าง ได้แก่ classes I II III และ IV โดยที่ classes I และ II ส่วนใหญ่จะมีขนาดโมเลกุลเล็กและเป็นเปปไทด์แบบ hydrophobic จึงทนต่อความร้อน classes I เรียกว่า lantibiotic (เช่น ไนซิน) และ classes II เรียกว่า non-lantibiotic ซึ่งแบ่งเป็น 3 ส่วนย่อย คือ classes IIa เป็น pediocin-like bacterins ให้ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Listeria* ได้ดีมาก (เช่น leucocin A-UAL 187, curvacin A และ pediocin PA-1) classes IIb เป็นแบคเทอริโอซินที่ประกอบด้วย 2 เปปไทด์ (เช่น lactococcin G และ lactacin F) และ classes IIc เป็นแบคเทอริโอซินที่สร้างโดย sec-dependent mechanism (เช่น lactococcin B) ส่วน classes III เป็นแบคเทอริโอซินที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงและไม่ทนต่อความร้อน (เช่น helveticin J,lactacins A และ B) และสุดท้ายคือ classes IV เป็นแบคเทอริโอซินเชิงซ้อน (complex bacteriocins) ประกอบด้วยส่วนของโปรตีนรวมกับส่วนที่ไม่ใช่โปรตีน ได้แก่ ไขมันหรือคาร์โบไฮเดรต (เช่น plantaricin S, latocin 27 และ leuconocin S) (Verna และคณะ, 1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20370

2.3 อาหารสัตว์ พันธิพา (2539)

วัตถุดิบอาหารสัตว์แบ่งออกเป็นกลุ่มใหญ่ 2 กลุ่ม คือ อาหารหยาบ (Roughage) และอาหารข้นหรือเข้มข้น (Concentrate)

2.4.1 อาหารหยาบ (Roughage)

หมายถึง วัตถุดิบอาหารสัตว์หรืออาหารผสมที่มีเยื่อใยหรือกาก (Crude Fiber) มากกว่า 18 % ขึ้นไป (เยื่อใยหรือกากเป็นส่วนที่ย่อยได้ยากโดยเฉพาะในสัตว์กระเพาะเดี่ยว) เช่น ฟางข้าว แกลบ พืชหมัก หญ้าหมัก ฯลฯ

สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มตามคุณสมบัติทางฟิสิกส์ (ตามลักษณะภายนอกที่มองเห็น)

1. อาหารหยาบที่มีสีเขียวหรือที่สด (Green Roughage) เช่น ทุ่งหญ้า หรือการตัดพืชสด ๆ มาให้สัตว์กิน (Soilage Crop)

2. อาหารหยาบที่แห้ง (Dry Roughage) เช่น ฟาง (ข้าว) หญ้าแห้ง

3. พืชหมัก (Silage) หมายถึง การนำเอาพืชสดมาถนอมไว้ให้สัตว์กินโดยขบวนการหมัก พืชที่ใช้มีทั้งหญ้าหรือต้นถั่วชนิดต่างๆ ต้นข้าวโพด ต้นข้าวฟ่าง ฯลฯ

2.4.2 อาหารข้น (Concentrate)

หมายถึง วัตถุดิบอาหารสัตว์หรืออาหารที่มีเยื่อใยหรือกากไม่เกิน 18 % (ตั้งแต่ 18 % ลงไป) แบ่งออกได้ตามปริมาณโภชนะที่มีอยู่ในอาหารดังนี้

1. อาหารฐานหรืออาหารหลัก (Basal Feed) หมายถึงอาหารที่มีเยื่อใยไม่เกิน 18 % และมีปริมาณโปรตีนรวม
(Crude Protein) ไม่เกิน 16 % เป็นอาหารที่มีโปรตีนและแร่ธาตุค่อนข้างต่ำกว่าความต้องการของสัตว์ เป็นอาหารส่วนใหญ่ที่สัตว์กิน เพื่อให้ได้พลังงานหรือเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) เช่น รำ ข้าว ข้าวโพด ฯลฯ

2. อาหารเสริมโปรตีน (Protein Supplement) เป็นอาหารข้น (คือมีเยื่อใยไม่เกิน 18 %) ที่มีโปรตีนรวมมากกว่า
16 % ขึ้นไป มักใช้ผสมกับอาหารพลังงานให้สูงขึ้น จนเพียงพอต่อความต้องการของสัตว์ แบ่งจากแหล่งที่ผลิตได้ 3 แหล่ง คือ

ก. อาหารโปรตีนจากสัตว์ เช่น ปลาป่น เนื้อป่น หางนม (ผง) ฯลฯ

ข. อาหารโปรตีนจากพืช เช่น กากถั่วเหลือง กากถั่วลิสง กากฝ้าย ฯลฯ

ค. อาหารที่เป็นส่วนประกอบไนโตรเจนแต่ไม่ใช่โปรตีน (Non – Protein nitrogen) ซึ่งนิยมใช้เป็นแหล่งเสริมไนโตรเจนให้กับสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น ยูเรีย (Urea) ไบยูเร็ท (Biuret) มูลไก่แห้ง (มี Uric acid) ฯลฯ

3. อาหารเสริมแร่ธาตุ (Mineral Supplement) เป็นอาหารที่ให้สัตว์กินเพื่อเพิ่มแร่ธาตุให้กับสัตว์ แบ่งออกเป็น 2 พวก คือ

3.1 อาหารเสริมแร่ธาตุหลัก (Macro or Major Elements) หมายถึง แร่ธาตุที่สัตว์ต้องการในปริมาณสูง เช่น เกลือ กระดูกป่น เปลือกหอยป่น หินปูน ฯลฯ ซึ่งเป็นแหล่งเสริมแร่ Ca , P , Na และ Cl เป็นต้น

3.2 อาหารเสริมแร่ธาตุปลีกย่อย (Micro Elements) หมายถึง แร่ธาตุที่สัตว์ต้องการในปริมาณน้อย มักใช้ในรูปของเกลืออนินทรีย์ เช่น เกลือซัลเฟตของธาตุ Cu , Mn เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

4. อาหารเสริมไวตามิน (Vitamin Supplement) เป็นอาหารที่เสริมให้แก่สัตว์เพื่อให้ได้รับไวตามินอย่างพอเพียง

แบ่งออกเป็น 2 พวก คือ

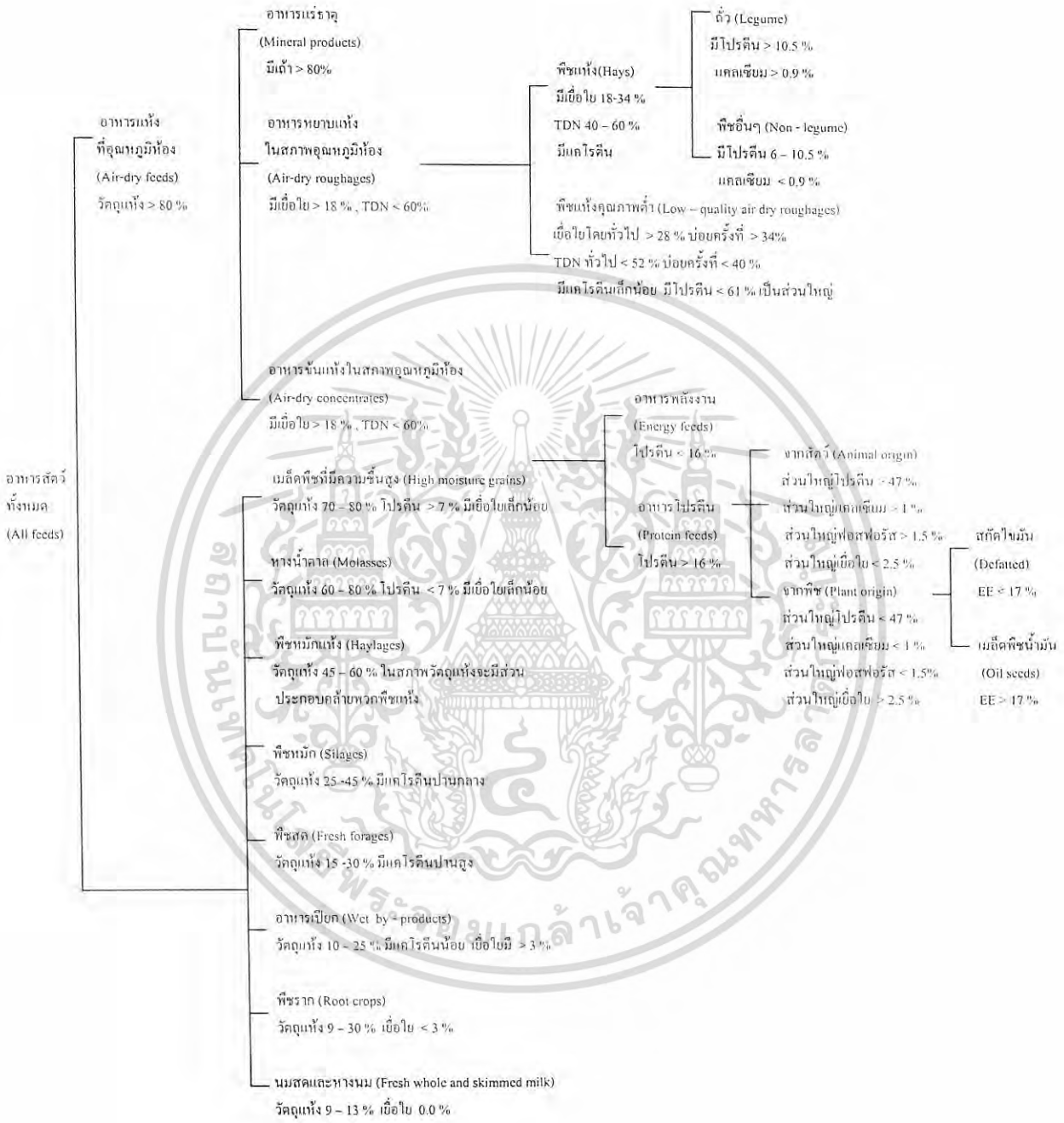
4.1 อาหารเสริมไวตามินจากธรรมชาติ เช่น ยีสต์ (Yeast) ผักหญ้าสด น้ำมันตับปลา ฯลฯ

4.2 ไวตามินสังเคราะห์หรือสกัดจากวัตถุดิบต่างๆ

5. อาหารเสริมอื่นๆ ซึ่งไม่ให้อาหารสัตว์โดยตรง หรือไม่ให้โภชนะแก่สัตว์โดยตรง (Indirect nutrients) ซึ่งแตกต่างจากข้อ 1 – 4 ที่จัดเป็นอาหารสัตว์โดยตรง (Direct nutrients) อาหารเหล่านี้ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ สารให้กลิ่น น้ำย่อยต่างๆ ฮอร์โมน ยาถ่ายพยาธิ ฯลฯ

จาก Feed and Feeding โดย Arthre E. Cullison, 1979 ได้เขียนแผนผังของการจำแนกกลุ่มอาหารสัตว์ ดังแผนภาพที่ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 แผนผังของการจำแนกกลุ่มอาหารสัตว์

ที่มา : พันธิพา (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์และสารเคมี

เครื่องมือ

1.	เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง		
2.	เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง		
3.	ตู้บ่มเชื้อ	Thermotek	ญี่ปุ่น
4.	หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)	Tommy ss-245	ญี่ปุ่น
5.	กล้องจุลทรรศน์	Olympus	ญี่ปุ่น
6.	เครื่องวัดพีเอช(pH meter)	Inolab	เยอรมัน
7.	ชุดสกัดไขมัน (Soxtherm)	Gerhardt s306AK	
8.	ชุดกลั่นโปรตีน	Buchi 426 , Buchi 316	สวิตเซอร์แลนด์
9.	ตู้อบ		
10.	เครื่องตีปั่น	Aes laboratories	ฝรั่งเศส
11.	ไมโครปิเปต 100-1000 ไมโครลิตร	Brand	เยอรมัน
12.	เตาเผา(Furnaces)		
13.	ตู้เกลี่ยเชื้อ		

อุปกรณ์เล็กๆ

1. ช้อนตักสาร
2. เข็มเขี่ยเชื้อ
3. ตะเกียงแอลกอฮอล์
4. อะลูมิเนียมแคน
5. กระดาษลิตมัส
6. กระดาษชั่งสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องแก้ว

1. แท่งแก้วตัว L
2. จานเพาะเชื้อ (Petridish)
3. ฟลาสก์(Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. ปิเปต(Pipette) ขนาด 0.1 1 5 10 มิลลิลิตร
5. บิวเรต
6. บีกเกอร์
7. กระบอกตวง
8. ขวดวัดปริมาตร
9. หลอดทดลอง
10. หลอดหยด

อื่นๆ

1. สำลี และ ฟอยล์
2. ถุงพลาสติก

สารเคมี

1. สารละลายคริสตัลไวโอเลต
2. สารละลายไอโอดีน
3. สารละลายซาฟรานินโอ
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตราฐาน
5. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน

Proximate Analysis

1. วิเคราะห์ไขมัน

   Petroleum ether

2. วิเคราะห์โปรตีน

   Conc.H_2SO_4 93-98%

   Boric acid 2%

   HCI 0.01 N

   NaOH 32%

   Catalyst ประกอบด้วย K_2SO_4 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$CuSO_4.5H_2O$ 20 กรัม

ผสมเข้าด้วยกัน

Mixed indicator ก. เตรียม 0.1% Bromocresol green ใน 95% alcohol และ 0.1% Methyl red ใน 95% alcohol

ข. ผสม 10 มิลลิลิตร Bromocresol green กับ 2 มิลลิลิตร Methyl red ใน ขวดหยด สารละลายดังกล่าว 4 หยด มีปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร

3. วิเคราะห์เยื่อใย

H_2SO_4 0.2

NaOH 0.313 N

Alcohol 95%

อาหารเลี้ยงเชื้อ

MRS

ละลายอาหาร 55 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร เติมผงวุ้น 15 กรัม ต้มวุ้นให้ละลาย ใส่อาหารวุ้น MRS ที่หลอมเหลวปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สำหรับกรณีการตรวจการสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติก ให้เติมแคลเซียมคาร์บอเนต 5 กรัม ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ

NA

Beef extract	3 กรัม
Peptone from meat	5 กรัม
Agar	12 กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น 1 ลิตร ต้มวุ้นให้ละลาย นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

PEPTONE

ชั่ง Peptone 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร คนให้ละลาย จากนั้นนำไปนึ่งที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตอาหารสัตว์จากกากถั่วเหลือง ประกอบด้วย

1.1 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบก่อนการหมัก

โดยทำการspread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำโคโลนีที่ได้ มาทำการย้อมแกรม และส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

2. ลักษณะของกากถั่วเหลือง

โดยการวิเคราะห์หาความชื้นในอาหารโดยประมาณ (Proximate Analysis) (A.O.A.C. ,1980)วัด pH

ด้วยเครื่องวัดพีเอชในกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบก่อนการหมัก

3. เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

3.1 การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* , *Pediococcus sp* , *L.plantarum* 48 และเชื้อผสมทั้ง 3 ชนิดผสมกันในอัตราส่วนที่เท่ากัน ทำการทดลองโดยการ ชั่งกากถั่วเหลือง ชุดละ 300 กรัม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 3x4 นิ้ว จากนั้นใส่เชื้อแบคทีเรียแลคติกดังกล่าว ซึ่งเลี้ยงใน MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ปริมาณ 5% ปิดฝากล่องให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นระยะเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยวัดปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C. ,1980) ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น และตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติก ซึ่งบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

3.2 การหมักกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ

โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* , *Pediococcus sp* , *L.plantarum* 48 และเชื้อผสมทั้ง 3 ชนิดผสม กันในอัตราส่วนที่เท่ากัน ทำการทดลองโดยการ ชั่งกากถั่วเหลือง ชุดละ 300 กรัม บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 3x4 นิ้ว จากนั้นใส่เชื้อแบคทีเรียแลคติกดังกล่าว ซึ่งเลี้ยงใน MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ปริมาณ 5% ปิดฝากล่องให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยวัดปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C. ,1980) ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น และตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติก ซึ่งบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96570

4. ปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลือง

เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลือง ในข้อ 3.1 และ 3.2 โดยศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ที่ 5 10 15 20 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย โดยวัดปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C. ,1980) ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น และตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติก ซึ่งบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

5. ปริมาณกากน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ และไม่เติมแบคทีเรียแลคติก

เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลือง ที่ไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมแบคทีเรียแลคติก และเติมกากน้ำตาลในปริมาณต่างๆ คือ 0 2 4 6 8 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองโดยการ ชั่งกากถั่วเหลือง ชุดละ 300 กรัม บรรจุในกล่องพลาสติกขนาด 3x4 นิ้ว ผสมกากน้ำตาลในปริมาณต่างๆ กัน ปิดฝากล่องให้แน่น นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน ทำการเปรียบเทียบผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติก โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก โดยวัดปริมาณกรดทั้งหมด(A.O.A.C. ,1980) ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น และตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติก ซึ่งบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

6. สภาพการหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลือง

เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลือง โดยควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองด้วยการปิดและไม่ปิดฟอยล์ บริเวณผิวหน้ากากถั่วเหลือง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน ทำการเปรียบเทียบผลการเจริญของแบคทีเรียแลคติก โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อติดตามอัตราการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก โดยวัดปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C. ,1980) ความเป็นกรดด่าง ปริมาณความชื้น และตรวจนับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติก ซึ่งบ่มที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

7. วิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ (Proximate Analysis)

นำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักกับแบคทีเรียแลคติกที่ได้จากการคัดเลือกในขั้นต้น ในสภาวะที่เหมาะสม มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ(Proximate Analysis) (A.O.A.C. ,1980) ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน และเยื่อใย ที่มีในกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบ และกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงทุกๆ 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โดยวิธีเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ (Spread Plate)

เทอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ รอจนอาหารในจานเพาะเชื้อแข็ง นำไปตากผิวหน้าของอาหารในตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow) เปิดแสง UV และพัดลมดูดอากาศ ทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที นำตัวอย่างอาหารที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างอาหารปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนผิวหน้าอาหาร ใช้แท่งแก้วตัว L จุ่มแอลกอฮอล์ลนไฟ แล้วทิ้งเย็นในอากาศ เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหาร จนตัวอย่างอาหารซึมลงในอาหารแข็งแล้ว นำจานเพาะเชื้อไปใส่ในตู้บ่มเชื้อ นับจำนวนโคโลนีในระดับความเจือจางที่เหมาะสมได้ประมาณ 30-300 โคโลนี คำนวณจุลินทรีย์ต่อกรัม หรือต่อมิลลิลิตร

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด

ดัดแปลงจาก A.O.A.C. , 1980 คิดในรูปกรดแลคติก

นำตัวอย่าง 2 กรัม มาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 30 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตราฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ ซึ่งมีสีชมพู ปริมาณกรด คำนวณในรูปกรดแลคติก ตามสูตร

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{N \times V \times 90.08 \times 100}{1000 \times 2}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตราฐาน 0.1 N NaOH

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตราฐาน 0.1 N NaOH

การวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ (Proximate Analysis)

1. **ปริมาณความชื้น**

นำกากถั่วเหลือง 5 กรัม บรรจุใน aluminium can นำไปเข้าตู้อบ โดยใช้อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำกากถั่วเหลืองที่อบแล้วเข้าโถอบแห้งเพื่อดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น จึงนำมาชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก จากนั้นนำเข้าตู้อบอีกครั้ง จนได้เวลาตามต้องการ นำเข้าโถอบแห้ง ทิ้งไว้ให้เย็น ทำซ้ำหลายๆ ครั้ง จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ ซึ่งน้ำหนักที่หายไป จะเป็นน้ำหนักของความชื้น

$$\% \text{ความชื้น} = \frac{(a-b)}{w} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปริมาณไขมัน

นำกากถั่วเหลืองที่อบแห้งแล้ว 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรองใส่ใน thimble บรรจุในชุดสกัดไขมัน Soxtherm โดย thimble อยู่ใน extraction tube ซึ่งด้านบนต่อกับ condenser ส่วนด้านล่างต่อกับ round bottom flask ชนิด 2 หรือ 3 คอ ตวง petroleum ether 140 มิลลิลิตร ในขวดแก้วก้อนกลม ต่อสายยางน้ำเข้า - ออก จาก condenser ก่อนเปิดสวิสช์ของเตา heating mantle ปรับระดับความร้อนอย่างเหมาะสม (เช่น 150 หยดต่อหยด) เพื่อให้ไอของ anhydrous ether ควบแน่นหยดลงบนตัวอย่างอย่างต่อเนื่อง นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วนของไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 30 นาที ไล่ ether จนหมดนำไปทำให้เย็น ในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักของ crude fat

เตรียมบีกเกอร์แห้งสะอาดทราบน้ำหนักมาก่อน สำหรับชั่งน้ำหนักที่สกัดได้ ในกรณีที่มีปริมาณน้ำมันน้อย ให้ชั่งน้ำมันที่สกัดได้ในภาชนะเดิม

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักบีกเกอร์และไขมัน} - \text{น้ำหนักบีกเกอร์}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$$

ข้อแนะนำ

นิยมใช้ anhydrous ethyl ether หรือ petroleum ether (จุดเดือด 35 องศาเซลเซียส) ในการสกัดน้ำมันจากตัวอย่างอาหาร petroleum ether มีราคาถูก ส่วน diethyl ether ควรเลือกใช้ชนิด anhydrous นี้ เนื่องจากถ้ามีน้ำปะปนมา จะสามารถละลายน้ำตาล และสารประกอบอื่นได้

3. ปริมาณโปรตีน

นำกากถั่วเหลือง 1 กรัม ใส่ลงในขวด Kjeldahl flask 250 มิลลิลิตร อย่าให้กากถั่วเหลืองเลอะคอขวด เติม catalyst 7-10 กรัม กรดซัลฟูริคเข้มข้น 15 มิลลิลิตร และ boiling chips จากนั้นนำ Kjeldahl flask ตั้งบนเตาของชุดย่อยโปรตีนที่มีระบบดูดควันที่ดี ใช้ความร้อนต่ำ ประมาณ 5 นาที ก่อนเร่งความร้อนให้สูงขึ้น ย่อยโปรตีนจนได้สารละลายสีฟ้าใส (นานประมาณ 1 ชั่วโมง) ขณะย่อยโปรตีนหมุนขวดเป็นระยะๆ รอให้สารละลายสีฟ้าเย็น และหมดควันของไอกรด ก่อนเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

เปิดชุดกลั่นโปรตีน และผ่านน้ำเย็นเข้า – ออก สวิสช์ของชุดกลั่นให้มีความร้อนเพียงพอในขณะเริ่มต้นกลั่น และป้องกันการไหลย้อนของสารละลายที่ใช้เก็บแอมโมเนีย ดูดกรดบอริค 60 มิลลิลิตร ใน Erlenmeyer flask 250 มิลลิลิตร ที่แห้ง และสะอาด หยด mixed indicator 4 หยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขย่าให้เข้ากันดี ก่อนนำไปวางใต้เครื่องกลั่น โดยให้ปลาย condenser จุ่มในสารละลาย ดูด สารละลายที่ได้จากการย่อยโปรตีนในข้างต้น 5 มิลลิลิตร ลงในขวดกลั่น เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32% จำนวน 100 มิลลิลิตร ประกอบเข้าชุดกลั่น แอมโมเนียที่เกิดจากปฏิกิริยา จะผ่าน condenser ลงสู่สารละลายบอริค สีของสารละลายจะเปลี่ยนจากม่วง – น้ำเงิน ไปเป็น เขียว –น้ำเงิน การเปลี่ยนสีเป็นไปอย่างรวดเร็ว ประมาณ 20 – 30 วินาที เมื่อสารละลายบอริค เปลี่ยนสีประมาณ 5 นาที ลดระดับของ Erlenmeyer flask ให้ปลาย condenser อยู่เหนือระดับของของเหลว 1 เซนติเมตร ล้างปลาย condenser ด้วยน้ำกลั่น รอให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปอีกประมาณ 1 – 2 นาที ก่อนนำไปไตเตรตกับสารละลายไฮโดรคลอริค 0.01 N จนสีน้ำเงิน เปลี่ยนไปเป็นสีใส – ไม่มีสี

ข้อแนะนำ

อาจไทเทรตจนเป็นสีชมพู ลบปริมาตรของไฮโดรคลอริคออก 0.02 มิลลิลิตร จะทำให้สังเกตจุดยุติ ได้ง่ายขึ้น เนื่องจากสีชมพูจะเข้มข้น เมื่อหยดไฮโดรคลอริคเกินเพียงหยดเดียว

$$\%\ \text{ไนโตรเจน} = \frac{(A-B) \times CDE \times 100}{FG \times 1000}$$

เปอร์เซนต์โปรตีน = (% ไนโตรเจน) x 6.25

เมื่อ A = มล.ของสารละลายไฮโดรคลอริคที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง

B = มล.ของสารละลายไฮโดรคลอริคที่ใช้ไทเทรตกับ blank

C = ความเข้มข้น(N) ของกรดไฮโดรคลอริค

D = 14

E = มล.ของสารละลายที่ผ่านการย่อย(100 มล.)

F = มล.ของสารละลาย E ที่นำไปกลั่น(5 มล.)

G = น้ำหนักตัวอย่าง

4. ปริมาณสารเยื่อใย

ชั่งกากถั่วเหลือง 2 กรัม ใน Digestion flask (500 – 700 มล.) ซึ่งเป็นขวดแก้วก้นกลม เติมกรดซัลฟูริคที่ผ่านการต้มเดือด 200 มล. และ boiling chips 2 – 3 ชิ้น ก่อนนำ condenser มาประกอบตอนบนของเหลว นำไปต้มบนเตาของชุดย่อย crude fiber โดยให้สารละลายเดือดนาน 30 นาทีต่อเนื่องกัน เขย่าขวดเพื่อไม่ให้ตัวอย่างเกาะบนผนังขวด กรองกากด้วยผ้ากรองบน buchner funnel และใช้ปั๊มช่วยในการกรอง ล้างกากด้วยน้ำเดือด จนหมดฤทธิ์กรด โดยทดสอบด้วยกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตมัส เทกากกลับใน Digestion flask เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ผ่านการต้มเดือด 200 มล. ต้มส่วนผสมนาน 30 นาที กรองทันที และล้างกากด้วยน้ำเดือด จนหมดฤทธิ์ด่าง เทกาก กลับใน Digestion flask อีกครั้ง ล้างตะกอนที่ติดผ้ากรองด้วยน้ำเดือดหลายๆครั้ง เทกากกลับใน Digestion flask ผ่านไปใน sintered glass crucible ล้างกากด้วยน้ำเดือดหลายๆครั้ง ล้างกากด้วย แอลกอฮอล์ จำนวน 30 มล. อบ crucible พร้อมกากที่อุณหภูมิ 100.5 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักเมื่อเย็นลง นำไปเผาใน muffle furnace ที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพื่อขจัดสาร volatile organic นำ crucible มาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนชั่งน้ำหนัก น้ำหนักที่หายไป เป็นน้ำหนักของ crude fiber

$$\% \text{ crude fiber} = (\text{น้ำหนัก crude fiber} * 100) / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}$$

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

1. จำนวนโคโลนีในกากถั่วเหลืองก่อนผ่านการหมักบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA เวลา 24 ชั่วโมง

จำนวนโคโลนี($x10^{8}$)/กรัม		
ระดับความเข้มข้น10^{-4}	ระดับความเข้มข้น10^{-5}	ระดับความเข้มข้น10^{-6}
> 300	80	4

จากการ spread plate พบว่ามีเชื้อแบคทีเรียในกากถั่วเหลือง ที่วัดเป็นจำนวนโคโลนีเท่ากับ 80×10^{8} ต่อกากถั่วเหลืองปริมาณ 1 กรัม

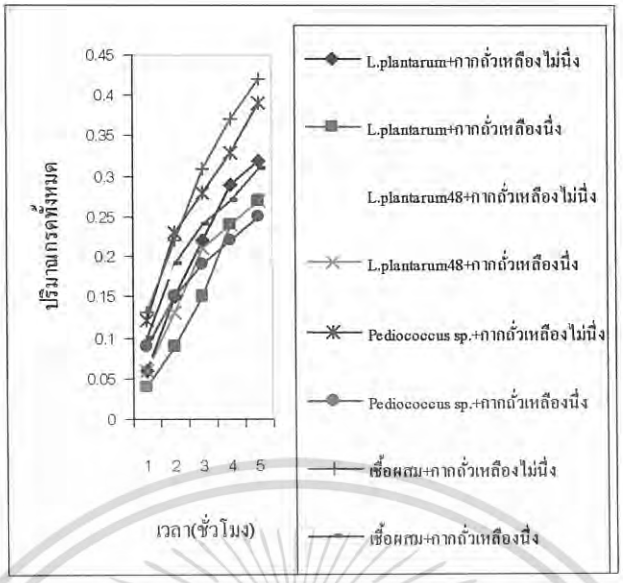
ภาพที่ 6 เชื้อจุลินทรีย์ในกากถั่วเหลืองก่อนผ่านกระบวนการหมัก หลังผ่านการย้อมแกรม

จากภาพแสดงว่าในกากถั่วเหลืองมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบมีลักษณะเป็นท่อน(rod) มีทั้งที่เป็นท่อนเดี่ยวๆและที่ต่อกันเป็นสายยาว

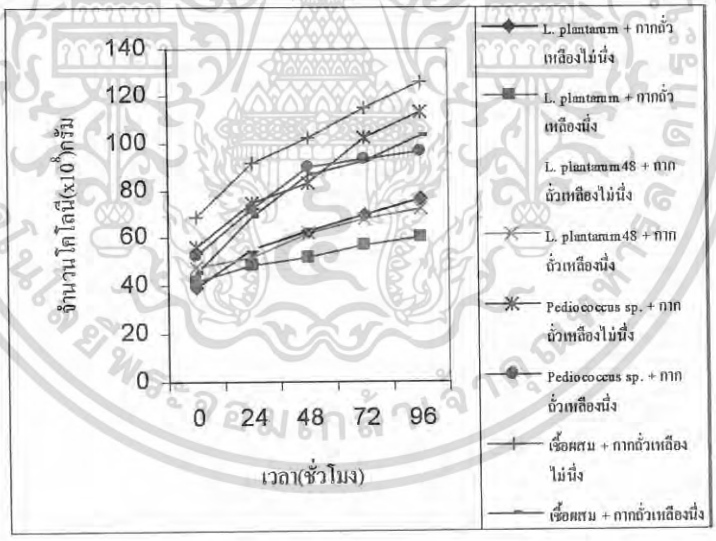
2. เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 7 และ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 แสดงปริมาณกรดทั้งหมด ระหว่างกากถั่วเหลือง ที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่งที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ



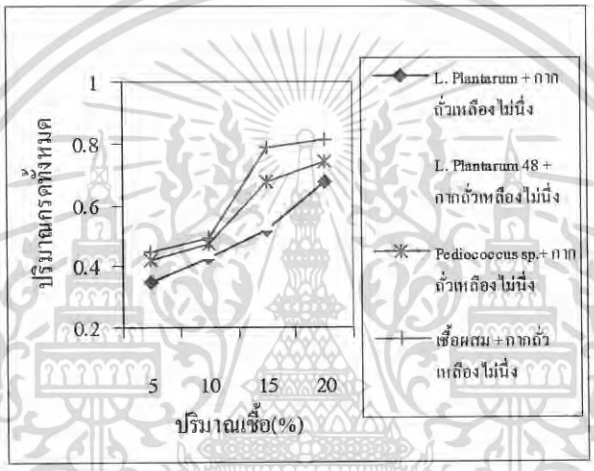
ภาพที่ 8 แสดงจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ พบว่า กากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกผสมทั้ง 3 ชนิด ให้ผล ดีกว่าเมื่อใช้แบคทีเรียแลคติกชนิดเดียว เนื่องจากให้ปริมาณกรดทั้งหมด จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลค ติ กบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

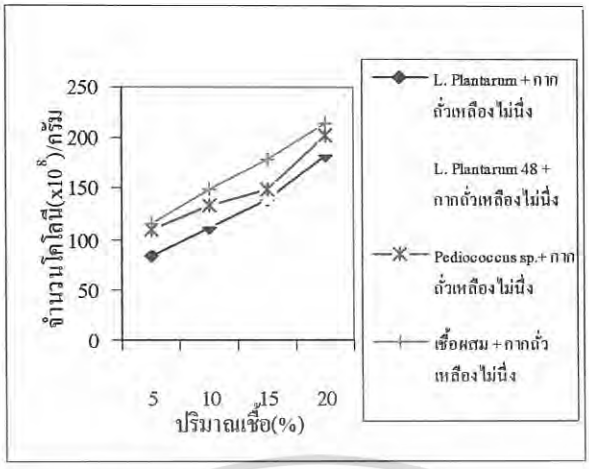
3. เปรียบเทียบปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลือง

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ ที่ปริมาณต่างๆกัน คือ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 8 และ 9



ภาพที่ 9 แสดงปริมาณกรดทั้งหมด ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่างๆ ที่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

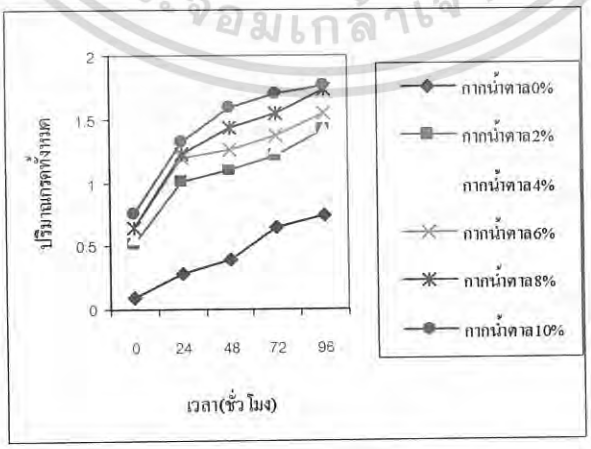


ภาพที่ 10 แสดงจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่งที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติก ต่างๆ ที่ 5 10 15 20 เปอร์เซ็นต์

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งและไม่นึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกที่ปริมาณ ต่างๆกัน พบว่า แบคทีเรียแลคติกที่เติมในปริมาณ 20% ของกากถั่วเหลืองในสภาพไม่นึ่งฆ่าเชื้อและใช้เชื้อผสม ให้ผลที่ดีสุด เนื่องจากให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

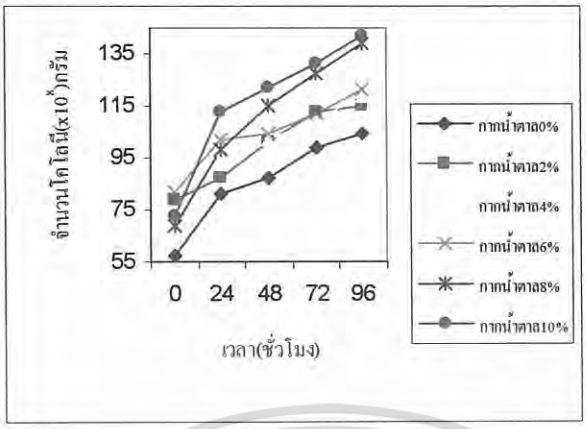
4. เปรียบเทียบปริมาณกากน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่ง

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 10 และ 11



ภาพที่ 11 แสดงปริมาณกรดทั้งหมดที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่งฆ่าเชื้อกากถั่วเหลือง และไม่เติมแบคทีเรียแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 แสดงจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่งฆ่าเชื้อกากถั่วเหลือง และไม่เติม แบคทีเรียแลคติก

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมแบคทีเรียแลคติก และเติมกากน้ำตาลที่ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณกากน้ำตาลที่ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกันมาก เมื่อนำมาคำนวณทางสถิติ 8% ให้ผลที่ดีที่สุด

5. เปรียบเทียบสภาพการหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลือง

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งและนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติก และทำการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยปิดหรือไม่เปิดฟอยล์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณกรดทั้งหมด ในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติกเป็นระยะเวลา 5 วันทุกๆ 24 ชั่วโมง

ชนิดแบคทีเรียแลคติก	ปริมาณกรดทั้งหมดที่เวลา(ชั่วโมง)				
	0	24	48	72	96
L. plantarum +กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	0.16 0.19*	0.29 0.37*	0.56 0.62*	0.67 0.72*	0.79 0.91*
L. plantarum +กากถั่วเหลืองนึ่ง	0.04 0.09*	0.13 0.16*	0.24 0.23*	0.29 0.31*	0.34 0.39*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	0.18 0.21*	0.22 0.37*	0.65 0.66*	0.76 0.87*	0.92 1.05*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองนึ่ง	0.04 0.08*	0.18 0.24*	0.33 0.41*	0.42 0.52*	0.50 0.62*
Pediococcus sp. +กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	0.18 0.25*	0.45 0.52*	0.60 0.77*	0.81 0.92*	1.00 1.11*
Pediococcus sp. +กากถั่วเหลืองนึ่ง	0.15 0.16*	0.22 0.31*	0.40 0.45*	0.49 0.53*	0.56 0.65*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	0.22 0.27*	0.58 0.61*	0.83 0.79*	1.08 1.19*	1.21 1.32*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองนึ่ง	0.13 0.19*	0.40 0.39*	0.54 0.62*	0.53 0.71*	0.76 0.82*

หมายเหตุ : * หมายถึง การหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อMRSในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติกเป็นระยะเวลา 5วันทุกๆ 24 ชั่วโมง

ชนิดแบคทีเรียแลคติก	จำนวนโคโลนีแบคทีเรียแลคติกที่10^{-5}ที่เวลา(ชั่วโมง)				
	0	24	48	72	96
L. plantarum + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	39 37*	55 49*	63 65*	70 77*	76 82*
L. plantarum + กากถั่วเหลืองนึ่ง	42 45*	49 52*	52 57*	57 61*	60 65*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	49 50*	58 61*	67 73*	85 86*	90 95*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองนึ่ง	48 52*	52 60*	62 65*	68 71*	72 76*
Pediococcus sp. + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	56 60*	75 81*	83 100*	102 112*	113 120*
Pediococcus sp. + กากถั่วเหลืองนึ่ง	53 50*	72 69*	90 77*	93 89*	96 103*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	69 75*	91 89*	102 105*	115 120*	126 133*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองนึ่ง	45 53*	69 65*	86 87*	92 101*	103 111*

หมายเหตุ : * หมายถึง การหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งและนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติก และทำการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยปิดหรือไม่เปิดฟอยล์ พบว่า การหมักแบบไม่ปิดฟอยล์ พบการเจริญของเชื้อรา ในขณะที่การหมักแบบปิดฟอยล์ของเชื้อผสมแบบไม่นึ่งฆ่าเชื้อให้ผลดีที่สุด เนื่องจาก ให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

6. วิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ

วิเคราะห์องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณของ กากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อที่ผ่านการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองด้วยการปิดฟอยล์ เติมหัวเชื้อที่ 20% และเติมกากน้ำตาล 8% เป็นระยะเวลา 5 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบของอาหารโดยประมาณ (%) ของกากถั่วเหลืองและกากถั่ว เหลืองที่ผ่านการหมักแบบไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์ เติมแบคทีเรียแลคติกที่ 20% และเติมกากน้ำตาล 8% เป็นระยะเวลา 5 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง

องค์ประกอบของอาหาร (%)	กากถั่วเหลือง	0 ชั่วโมง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ความชื้น	79.66	81.1	82.03	83.59	84.17	84.98
โปรตีน	25.94	27.13	31.75	38.54	41.23	49.22
ไขมัน	9.11	10.85	13.69	19.36	21.98	24.98
เยื่อใย	10.01	10.52	11.27	12.06	12.97	13.69

องค์ประกอบของอาหารโดยประมาณของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อที่ผ่านการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองด้วยการปิดฟอยล์ เติมหัวเชื้อที่ 20% และเติมกากน้ำตาล 8% เป็นระยะเวลา 5 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน และ เยื่อใย มีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งมีค่ามากกว่ากากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นวัตถุดิบ (ยังไม่ผ่านกระบวนการหมัก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

กากถั่วเหลืองมีทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบมีลักษณะเป็นแท่ง(rod) มีทั้งที่เป็นท่อนเดี่ยวๆและที่ต่อกันเป็นสายสาว

กากถั่วเหลือง สามารถนำมาใช้ในระบวนการหมักเพื่อผลิตเป็นอาหารสัตว์ได้โดยใช้กากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ผสมกับแบคทีเรียแลคติกผสม 3 ชนิดคือ *L.plantarum* , *Pediococcus sp.* และ *L. plantarum* 48 ทำการหมักโดยการควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองด้วยการปิดฟอยล์ร่วมกับ การเติมกากน้ำตาล 8 % ควบคุมที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้ผลที่ดีที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด จำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแลคติก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบของอาหาร โดยประมาณพบว่า ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน และ เยื่อใย เพิ่มขึ้นจากกากถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านกระบวนการหมัก

ข้อเสนอแนะ

ปัญหาที่พบจากการหมักกากถั่วเหลืองคือจะมีเชื้อราขึ้นที่ผิวหน้ากากถั่วเหลือง ซึ่งสามารถแก้ปัญหาได้โดยการอัดกากถั่วเหลืองให้แน่นแต่ก็ไม่ควรอัดแน่นจนเกินไป และใช้แผ่นฟอยล์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาปิดที่ผิวหน้าของกากถั่วเหลืองเพื่อ ไม่ให้มีปริมาณอากาศมากจนทำให้เกิดเชื้อราขึ้นที่ผิวหน้าได้ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณกากน้ำตาลที่เหมาะสมที่ใส่ลงในกากถั่วเหลืองเพิ่มให้เชื้อเกิดกระบวนการหมักที่รวดเร็วขึ้นนั้น พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่เพิ่มขึ้นที่ชั่วโมงที่ 96 ของกากน้ำตาลที่ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณกากน้ำตาลที่ 8 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นการประหยัดต้นทุน เมื่อนำไปใช้จริง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

คณาจารย์ภาควิชาพืชไร่นา. 2542. **พืชเศรษฐกิจ.** คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ 137 – 138

ณัชชา สุพิชญางกูร.2545.**การสกัดและการศึกษาคุณลักษณะของโปรตีนจากโอคารา.**ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การ อาหาร). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ : 1-9

แพรวา ห้องทองแดง, มนวิภา จารุตามระ และยุคล ลิ้มแหลมทอง. 2527. **โครงการวิจัยเรื่องการตรวจสอบคุณภาพอาหาร สัตว์ของผู้ผลิตอาหารสัตว์.** กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์.กรมปศุสัตว์.กรุงเทพฯ : 28-29

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์.2539. **การผลิตอาหารสัตว์.**โอ.เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์.กรุงเทพฯ : 1-3

สุกัญญา แก้วกุย.2544.**การผลิตกรอบเค็มเสริมกากถั่วเหลือง.**ปัญหาพิเศษ(ครุศาสตร์อุตสาหกรรม). สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ ทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ : 1,6

Halami, P.M., Chandrashekar, A. and Nand, K. 2000. ***Lactobacillus farciminis*** **MD, A newer strain with potential for bacteriocin and antibiotic assay.** Let. Appl. Microbial. 30 : 197-202

Jay, J.M. 1982. **Antimicrobial properties of diacetyl.** Appl. Environ. Microbiol. 44 : 525

Khachatrjan AP, Khachatrjan RG. **Method of production of ethyl alcohol and aqueous-spirituous solution from its for vodka production.** available at http://ep.espacenet.com : 25 กุมภาพันธ์ 2547

Klaenhammer, T.R. 1983. **Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria.** FEMS Microbiol. Rev. 12 : 39-86

Lejeune, R., Callewaert, R., Crabbe, K. and De Vuyst, L. 1998. **Modelling the growth and bacteriocin production by *Lactobacillus amylovorus* DCE 471 in batch cultivation.** J.Appl. Microbiol. 84 : 159-168

Mark, A.D. 1989. **Antimicrobial Substances from Lactic Acid Bacteria for Use as Food Preservatives.** Food Technol. : 164-167

Ozawa Mariko.**Production of tea from okara.** available at http://ep.espacenet.com : 25 กุมภาพันธ์ 2547

Salminen , S. and von Wright , A. 1993. **Lactic Acid Bacteria.** Dekker,1993 : 18,22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Shimoda Yokie. **Production of health food containing okara as main ingredient.** available at http://ep.espacenet.com : 25 กุมภาพันธ์ 2547

Ueda Michio, Shiodaeiji, Hama Yoshiaki, Izutsu Ko, Nakanishi Takaro. **Paper using okara and its production.** available at http://ep.espacenet.com : 25 กุมภาพันธ์ 2547

Verna, C. M., Gottlieb, A., John, W. H. 1997. **Purification of bacteriocins of lactic acid bacteria: problems and pointers.** Inter. J. of Food Microbiol. 34 : 1-16

A.O.A.C.1980.Official methode of analysis .13 th ed. Washington D.C. : Association of official Analytical Chemists

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

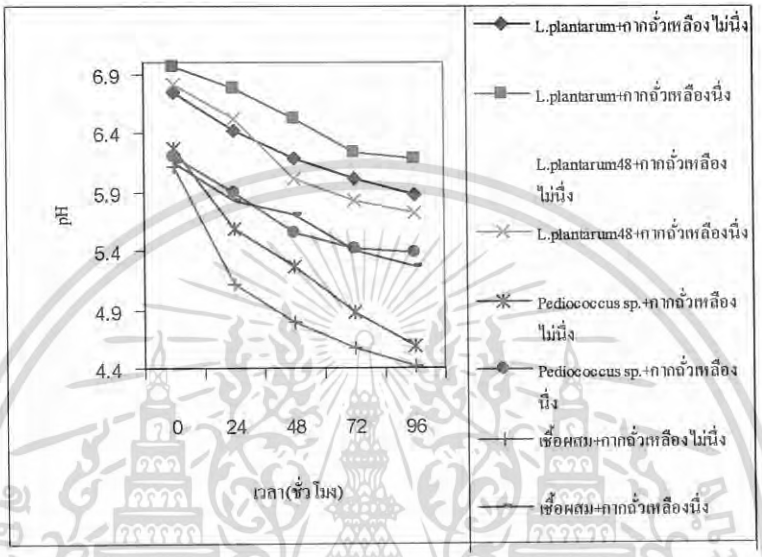
ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นกรดด่าง

1. เปรียบเทียบการหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 12



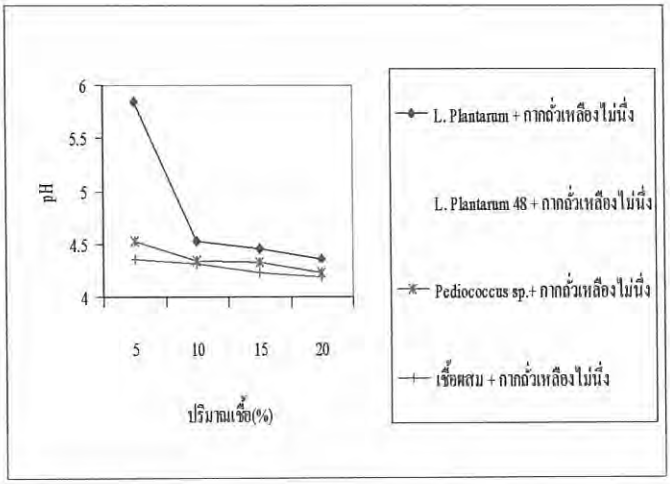
ภาพที่ 13 แสดงความเป็นกรดด่าง ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่งที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติกต่างๆ

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ พบว่า การหมักกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกผสม 3 ชนิด ให้ผลดีกว่าใช้แบคทีเรียแลคติกชนิดเดียว เนื่องจาก มีค่าความเป็นกรดด่างสูงสุด

2. เปรียบเทียบปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลือง

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่ง และไม่ผ่านการนึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกชนิดต่างๆ ที่ปริมาณต่างๆกัน คือ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 13

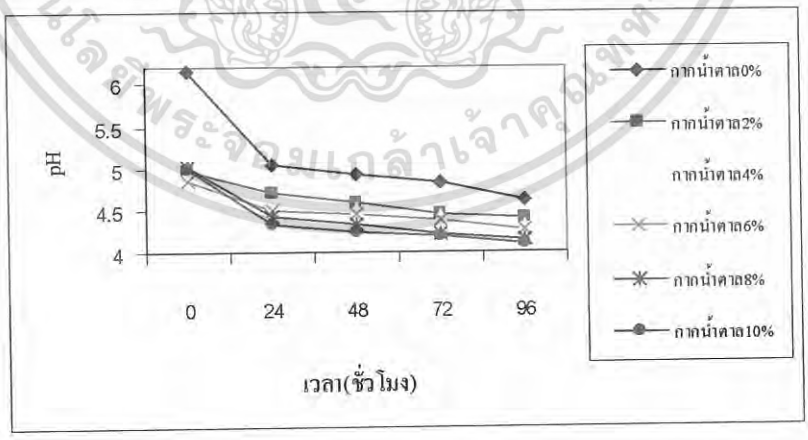
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 แสดงความเป็นกรดด่าง ระหว่างกากถั่วเหลืองที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่ง ที่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่างๆ ที่ 5 10 15 และ 20 เปอร์เซนต์

การหมักกากถั่วเหลืองที่ผ่านการนึ่งและไม่นึ่ง เติมแบคทีเรียแลคติกที่ปริมาณ ต่างๆกัน พบว่า แบคทีเรียแลคติกที่เติมในปริมาณ 20% ของกากถั่วเหลืองในสภาพไม่นึ่งฆ่าเชื้อและใช้เชื้อผสม ให้ผลที่ดีสุด เนื่องจากให้ ความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

3. เปรียบเทียบปริมาณกากน้ำตาลที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการนึ่ง การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 15 แสดงความเป็นกรดด่าง ที่ปริมาณกากน้ำตาลต่างๆ ไม่นึ่ง ฆ่าเชื้อกากถั่วเหลือง และไม่เติมแบคทีเรียแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมแบคทีเรียแลคติก และเติมกากน้ำตาลที่ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณกากน้ำตาลที่ 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าใกล้เคียงกันมาก เมื่อนำมาคำนวณทางสถิติ 8% ให้ผลที่ดีที่สุด เนื่องจากให้ ความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

4. เปรียบเทียบสภาพการหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลือง

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งและนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติก และทำการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยปิดหรือไม่เปิดฟอยล์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงความเป็นกรดด่าง ในสภาพการหมักแบบที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์และไม่ปิดฟอยล์ และเติมแบคทีเรียแลคติก เป็นระยะเวลา 5 วัน ทุกๆ 24 ชั่วโมง

ชนิดแบคทีเรียแลคติก	ความเป็นกรดด่างที่เวลา(ชั่วโมง)				
	0	24	48	72	96
L. plantarum + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	6.75 6.53*	6.42 6.38*	6.18 6.25*	6.02 5.97*	5.87 5.85*
L. plantarum + กากถั่วเหลืองนึ่ง	6.97 6.95*	6.78 6.67*	6.52 6.43*	6.23 6.32*	6.19 6.15*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	6.57 6.44*	6.01 5.9*	5.82 5.74*	5.62 5.58*	5.53 5.51*
L. plantarum 48 + กากถั่วเหลืองนึ่ง	6.81 6.8*	6.53 6.22*	6.01 5.97*	5.83 5.78*	5.72 5.68*
Pediococcus sp.+ กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	6.27 6.17*	5.59 5.82*	5.26 5.17*	4.88 4.85*	4.59 4.53*
Pediococcus sp.+ กากถั่วเหลืองนึ่ง	6.2 6.15*	5.89 5.83*	5.56 5.51*	5.42 5.4*	5.39 5.32*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง	6.12 6.05*	5.12 5.28*	4.79 4.72*	4.57 4.4*	4.42 4.35*
เชื้อผสม + กากถั่วเหลืองนึ่ง	6.15 6.1*	5.82 5.67*	5.71 5.42*	5.4 5.23*	5.27 5.15*

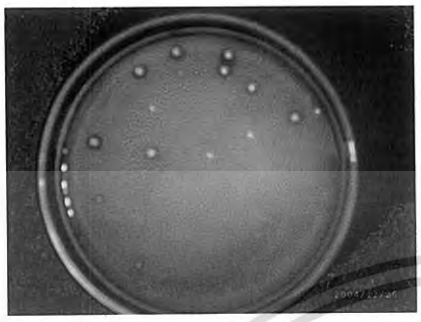
หมายเหตุ : * หมายถึง การหมักแบบควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยการปิดฟอยล์

การหมักกากถั่วเหลืองไม่นึ่งและนึ่งฆ่าเชื้อ ในสภาพที่มีการเติมแบคทีเรียแลคติก และทำการหมักที่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้ากากถั่วเหลืองโดยปิดหรือไม่เปิดฟอยล์ พบว่า การหมักแบบไม่ปิดฟอยล์ พบการเจริญของเชื้อรา ในขณะที่การหมักแบบปิดฟอยล์ของเชื้อผสมแบบไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ให้ผลดีที่สุด เนื่องจาก ให้ค่าความเป็นกรดด่าง เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคโลนีแบคทีเรียแลคติก

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ไม่ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการไม่ปิดฟอยล์

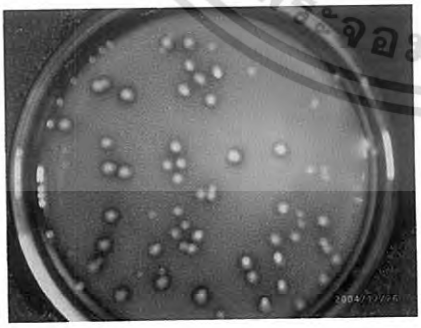


ภาพที่ 16 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L.plantarum* (10^{-5})

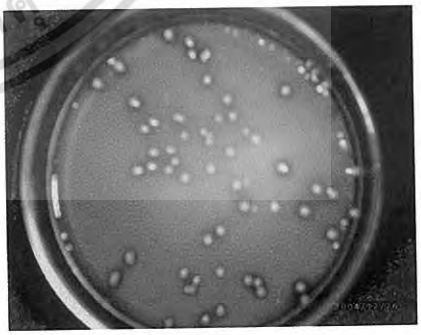
ภาพที่ 17 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 18 เวลา 48 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L.plantarum*48 (10^{-5})

ภาพที่ 19 เวลา 48 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L.plantarum*48 (10^{-5})



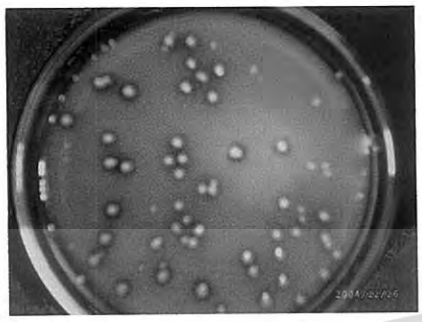
ภาพที่ 20 เวลา 48 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})



ภาพที่ 21 เวลา 96 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *Pediococcus sp.*(10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของกากถั่วเหลืองไม่นึ่งฆ่าเชื้อ ไม่เติมหัวเชื้อ และเติมกากน้ำตาลที่ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 22 เวลา 48 ชั่วโมง
กากน้ำตาล 2 %

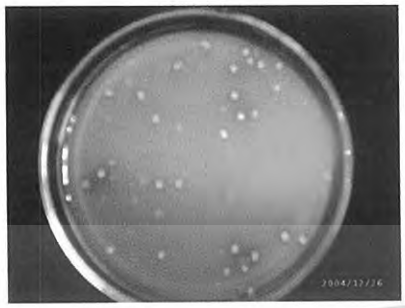
ภาพที่ 23 เวลา 96 ชั่วโมง
กากน้ำตาล 4 %

ภาพที่ 24 เวลา 48 ชั่วโมง
กากน้ำตาล 6 %

ภาพที่ 25 เวลา 24 ชั่วโมง
กากน้ำตาล 8 %

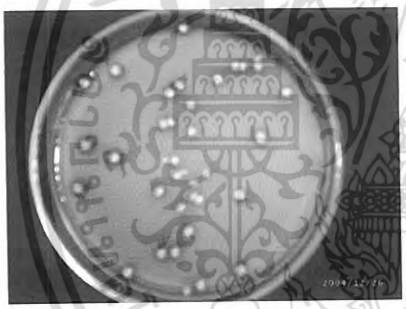
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 5 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์



ภาพที่ 26 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5})

ภาพที่ 27 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

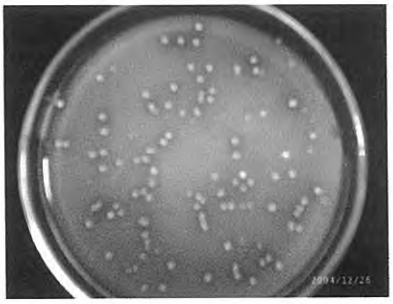


ภาพที่ 28 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง+ *L. plantarum* 48 (10^{-5})

ภาพที่ 29 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 30 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *Pediococcus sp.*(10^{-5})



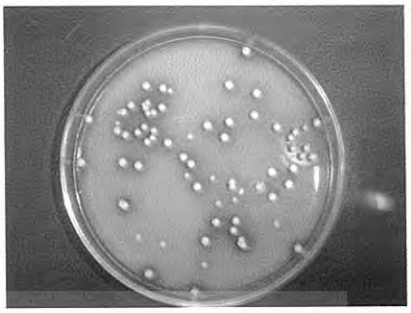
ภาพที่ 31 เวลา 72 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5})

ภาพที่ 32 เวลา 96 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 10 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

ภาพที่ 33 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง+ *L. plantarum* 48 (10^{-4})



ภาพที่ 34 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 35 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-4})

ภาพที่ 36 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 37 เวลา 48ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 15 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

ภาพที่ 38 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5})

ภาพที่ 39 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 40 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-4})

ภาพที่ 41 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *Pediococcus sp.* (10^{-5})

ภาพที่ 42 เวลา 48 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก 20 % ควบคุมอากาศที่ผิวหน้าด้วยการปิดฟอยล์

ภาพที่ 43 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* (10^{-4})

ภาพที่ 44 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 45 เวลา 0 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 46 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + *L. plantarum* 48 (10^{-5})

ภาพที่ 47 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + *L. plantarum* (10^{-5})

ภาพที่ 48 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 49 เวลา 24 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองไม่นึ่ง + เชื้อผสม (10^{-5})

ภาพที่ 50 เวลา 96 ชั่วโมง
กากถั่วเหลืองนึ่ง + เชื้อผสม (10^{-4})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้