ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

Effect of carbon sources in okara fermented by microbial *Lactobacillus plantarum* with *Bacillus subtilis*

เบญจมาศ นามคาน

แสงเดือน แซ่ไหล

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากเชื้อจุลินทรีย์
Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis
Effect of carbon sources in soybean meal fermented by microbial *Lactobacillus plantarum* with *Bacillus subtilis*

จัดทำโดย

เบญจมาศ นามคาน รหัสนักศึกษา 59080090
แสงเดือน แซ่ไหล รหัสนักศึกษา 59080125

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

อุมาพร

.....

11 / สิงหาคม / 2563

(ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

ชื่อนักศึกษา เบญจมาศ นามคาน รหัสนักศึกษา 59080090
แสงเดือน แซ่ไหล รหัสนักศึกษา 59080125

หลักสูตร วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

พ.ศ. 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ

บทคัดย่อ

กากถั่วเหลืองเป็นผลพลอยได้จากการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง ในกากถั่วเหลืองนั้นมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังมีประโยชน์ในการนำไปทำเป็นอาหารเลี้ยงลูกสุกร แต่การนำเอากากถั่วเหลืองไปทำเป็นอาหารลูกสุกรนั้น ต้องผ่านกระบวนการที่ทำให้คาร์โบไฮเดรตมีขนาดโมเลกุลที่เล็กลงก่อน เนื่องจากคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากกาถั่วเหลืองนั้นมีโมเลกุลขนาดใหญ่ และยังจัดเป็นสารต้านโภชนะ ในการทดลองได้นำกากถั่วเหลืองมาทำการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ โดยก่อนนำกากถั่วเหลืองมาหมักได้มีการนำไปฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 1000 กรัม ทำการหมักด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 001 และ *Lactobacillus plantalum* TISTR 862 แบ่งออกเป็น 10 การทดลอง โดยหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISTR 001 หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ, *L. plantalum* TISTR 862 หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ, *B. subtilis* TISTR 001 ร่วมกับ *L. plantalum* TISTR 862 ในอัตาร่วนเชื้อ 1:1 หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ, *B. subtilis* TISTR 001 ร่วมกับ *L. plantalum* TISTR 862 ในอัตราส่วนเชื้อ 1:2 หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ, *B. subtilis* TISTR 001 ร่วมกับ *L. plantalum* TISTR 862 ในอัตราส่วนเชื้อ 2:1 หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ ทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำกากถั่วเหลืองที่หมักเสร็จแล้วมาทำแห้งโดยการ tray dry เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำตัวอย่างบางส่วนมาสกัดโดยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ต่อมานำมาปั่นเหวี่ยงเอาส่วนใสที่ได้ไปทำการ evap ให้มีความเข้มข้น นำมาวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมดค่าที่ได้คือ 0.0046 g/g, 0.0047 g/g, 0.0105 g/g, 0.0101 g/g, 0.0041 g/g, 0.0072 g/g, 0.0059 g/g, 0.0038 g/g, 0.0065 g/g และ0.0053 g/g ตามลำดับ การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ค่าที่ได้คือ 0.00067 g/g, 0.00016 g/g, 0.0016 g/g, 0.00031 g/g, 0.00053 g/g,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.00053 g/g, 0.00092 g/g, 0.00026 g/g, 0.00086 g/g และ 0.00023 g/g ตามลำดับ จำนวนโดยประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่อยู่ในสายโพลีเมอร์ (Degree polymerization DP) ค่าที่ได้คือ 6.8657, 29.3750, 6.5625, 32.5806, 7.7358, 13.5849, 7.5581 และ 23.0435 ตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธี proximate analysis มีค่าเปอร์เซ็นต์คาร์โบไฮเดรตคือ 15.2740, 46.3851, 19.8131, 43.9831, 5.4499, 32.5805, 36.0259, 27.6699, 19.9338 และ 35.5682 ตามลำดับ เมื่อศึกษาผลการทดลองแล้วทำให้เห็นว่า การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. plantalum* ในสภาวะที่มีอากาศทำให้ได้ค่าน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในกากาถั่วเหลืองหมักมาที่สุดคือ 0.0105 g/g และการในการหมักด้วยเชื้อเดียวกันนี้ยังทำให้ค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองหมักมีค่ามากที่สุดอีกด้วยคือ 0.0016 g/g ในส่วนของจำนวนประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีอยู่ในสายโพลิเมอร์นั้น การหมักด้วยเชื้อ *L. plantalum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตราส่วน 1:2 ในสภาวะที่มีอากาศจะทำให้ได้ค่า DP น้อยที่สุดคือ 6.4130

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Effect of carbon sources in soybean meal fermented by microbial *Lactobacillus plantarum* with *Bacillus subtilis*
Student name	Benchamat Namkan student ID 59080090
	Saengdeuan Saelai student ID 59080125
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology
Year	2020
Advisor	Dr. Umarphorn Chadseesuwan

ABSTRACT

Soybean meal is a by-product of soybean milk production. In soybean meal is highly nutritious and soybean also have benefit to make food for piglets but before being use the soybean meal to make piglets food has to passed the process of making carbohydrates smaller molecular size. Due to the carbohydrates from soybeans have large molecules and anti- nutrients. In the experiment, soybean meal must be fermented by microbes. Before fermented soybean meal has been sterilized at temperature 121 degrees Celsius, pressure 15 pounds per square inch for 20 minutes, after that, bring sterilized soybean meal 1000 grams fermented with *Bacillus subtilis* TISTR 001 and *Lactobacillus plantarum* TISTR 862. Divided into 10 experiments. Fermented *B. subtilis* TISTR 001, aerobic and anaerobic fermentation. *L. plantarum* TISTR 862, aerobic and anaerobic fermentation. *L. plantarum* TISTR 862 with *B. subtilis* TISTR 001 in a molar ratio of 1:1, aerobic and anaerobic fermentation. *L. plantarum* TISTR 862 with *B. subtilis* TISTR 001 in a molar ratio of 1:2, aerobic and anaerobic fermentation. *L. plantarum* TISTR 862 with *B. subtilis* TISTR 001 at the molar ratio of 2:1 in aerobic and anaerobic fermentation. Fermented for 48 hours at 37 degrees Celsius. After that, dried by tray dry for 8 hours. Take some samples to extract by distilled water at a temperature of 60 degrees Celsius. Next, centrifuge and

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bring the clear substance to concentrate on the evaporator for analyze all the sugar by phenol-sulfuric method. The results of phenol-sulfuric method showed that 0.0046 g /g, 0.0047 g/g, 0.0105 g/g, 0.0101 g/g, 0.0041 g/g, 0.0072 g/g, 0.0059 g/g, 0.0038 g/g, 0.0065 g/g and 0.0053 g/g. Analyze of reducing sugars by 3,5-dinitrosalicylic acid method. The results of 3,5-dinitrosalicylic acid method showed that 0.00067 g/g, 0.00016 g/g, 0.0016 g/g, 0.00031 g/g, 0.00053 g/g, 0.00053 g/g, 0.00092 g/g, 0.00026 g/g, 0.00086 g/g and 0.00023 g/g respectively. Approximate number of monosaccharides in the polymer chain (Degree polymerization DP). The results showed that 6.8657, 29.3750, 6.5625, 32.5806, 7.7358, 13.5849, 7.5581 and 23.0435 respectively. Proximate analysis of carbohydrates content was analyzed by percentage values of carbohydrates 15.2740, 46.3851, 19.8131, 43.9831, 5.4499, 32.5805, 36.0259, 27.6699, 19.9338 and 35.5682 respectively. Experimental results showed that, Fermentation of soybean meal by *L. plantarum* under aerobic condition, the most total sugar content was 0.0105 g/g and Fermentation with the same bacteria have the highest value of reducing sugar the value was 0.0016 g / g. For the approximate number of monosaccharides contained in the polymer chain in a fermentation by *L. plantarum* TISTR 862 with *B. subtilis* TISTR 001 in aerobic condition, the lowest DP value was 6.4130.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือและการสนับสนุนจากหลาย ๆฝ่าย ขอขอบพระคุณ ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษาที่คอยให้คำปรึกษา ความช่วยเหลือ การสนับสนุน และคอยผลักดันในการทำวิจัยครั้งนี้ อีกทั้งขอขอบพระคุณนักวิทยาศาสตร์ทุก ๆท่านที่คอยให้คำแนะนำ คำปรึกษา ในการใช้งานเครื่องมือ อุปกรณ์ ในการทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่และครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ ผลักดันและขอบคุณเพื่อน ๆทั้งในสาขาเดียวกันและต่างสาขาที่คอยช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา ให้กำลังใจ และขอบคุณนางสาวเบญจมาศ นามคาน และนางสาวแสงเดือน แซ่ไหล ที่ร่วมกันทำงานวิจัยครั้งนี้ด้วยความตั้งใจ อดทน พยายามที่จะทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่างานวิจัยฉบับนี้จะก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจไม่มากก็น้อย หากงานวิจัยฉบับนี้มีข้อบกพร่องเกิดขึ้น ทางคณะผู้วิจัยขอน้อมรับผิดไว้แต่เพียงผู้เดียว และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่าน เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

เบญจมาศ นามคาน
แสงเดือน แซ่ไหล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I - II

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III - IV

กิตติกรรมประกาศ..... V

สารบัญ..... VI - VII

สารบัญตาราง..... VIII

สารบัญรูปภาพ..... IX

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 1

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 กากถั่วเหลือง..... 3

2.2 กากถั่วเหลืองหมัก..... 5

2.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง..... 6

2.4 การหมัก (Fermentation)..... 11

2.5 บทความที่เกี่ยวข้อง..... 13

บทที่ 3 อุปกรณ์วิธีการทดลอง..... 16

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี..... 16

3.2 วัสดุอุปกรณ์..... 17

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง..... 18

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์..... 25

4.1 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก..... 25

4.2 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก..... 26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ร่วมกับ *L. plantarum* TISTR862 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก..... 27
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ..... 42
บรรณานุกรม..... 44
ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ..... 47
ภาคผนวก ข วัตถุดิบและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง..... 49
ภาคผนวก ค ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง..... 53
ภาคผนวก ง รูปภาพ..... 80
ภาคผนวก จ วิธีการคำนวณ..... 84
ประวัติผู้เขียน..... 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001 ในกากถั่วเหลืองหมักทั้งสองสภาวะ..... 25

4.2 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR862 ทั้งสองสภาวะ..... 26

4.3 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR862 ในกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ร่วมกับ *L. plantarum* TISTR862 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ..... 27

4.4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001 ในกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ..... 29

4.5 ค่าความเป็นกรดเบสของกากถั่วเหลืองหลังหมัก..... 30

4.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และจำนวน DP ของตัวอย่างกากถั่วเหลืองหมักและกากถั่วเหลือง..... 33

4.7 การวิเคราะห์สารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก..... 37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะกากถั่วเหลือง	4
2.2 รูปร่างลักษณะของ *Bacillus subtilis*	7
2.3 รูปร่างลักษณะของ *Lactobacillus*	8
2.4 รูปร่างลักษณะของ *Escherichia coli*	10
2.5 ลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละระยะ	12
4.1 แผนภูมิแท่งแสดงค่า pH ของกากถั่วเหลือง, กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศและกากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	31
4.2 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก	35
4.3 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก	36
4.4 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของสารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและในกากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	39
4.5 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของสารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและในกากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย

กากถั่วเหลือง (soybean meal) ถือเป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันถั่วเหลืองจากโรงงานอุตสาหกรรมน้ำนมถั่วเหลือง และยังถือเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญในวัตถุดิบอาหารสัตว์ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนที่ค่อยข้างสูง สามารถหาได้ง่าย อีกทั้งยังมีราคาที่ไม่แพง ในกากถั่วเหลืองนั้นจะมีส่วนของสารต้านโภชนาการ เช่น สารยับยั้งเอนไซม์ทริปซินไฟเตท เลคติน รวมถึงโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งสารเหล่านี้จะเป็นข้อจำกัดในการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์ โดยเฉพาะในระยะเล็ก

การหมักกากถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์ อาทิเช่น *Lactobacillus plantarum* และ *Bacillus subtilis* เป็นต้น จุลินทรีย์เหล่านี้นอกจากจะช่วยเพิ่มปริมาณกรดอะมิโน โปรตีนรวม และยังทำให้สายเปปไทด์สั้นลงซึ่งในส่วนนี้สามารถเพิ่มความสามารถในการย่อยได้ในสัตว์ได้มากขึ้น นอกจากนั้นยังช่วยลดสารต้านโภชนาการต่าง ๆ ลงได้ การใช้กากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักด้วยจุลินทรีย์ในอาหารสัตว์ ทำให้สัตว์เกิดการแพ้ที่ลดลง มีสัณฐานวิทยาของลำไส้ที่ดีขึ้น กิจกรรมของเอนไซม์ในทางเดินอาหารเพิ่มขึ้น การย่อยอาหารเพิ่มขึ้น สามารถย่อยโปรตีนได้มากขึ้นและมีสมรรถภาพการผลิตที่ดีขึ้นด้วยเช่นกัน ทั้งนี้การใช้จุลินทรีย์ในการหมักกากถั่วเหลืองสามารถผลิตเอนไซม์และสังเคราะห์สารสำคัญได้แตกต่างกัน ส่งผลให้กากถั่วเหลืองที่หมักได้มีคุณสมบัติที่แตกต่าง

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถของกากถั่วเหลืองหมักไปเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *B. subtilis* TISTR 001 และ *L. plantarum* TISTR 862

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนที่ได้จากกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISTR 001 และ *L. plantarum* TISTR 862 ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Escherichia coli* และจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกในมูลของลูกสุกร

1.2.3 เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบแหล่งของคาร์บอนที่ใช้ในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ต่อการกระตุ้นการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถนำกากถั่วเหลืองไปพัฒนาเป็นส่วนผสมของอาหารเลี้ยงสัตว์ทางการเกษตร

1.3.2 แหล่งคาร์บอนจากกากถั่วเหลืองที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *B.subtilis* TISTR 001 และ *L. plantarum* TISTR 862 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 และเชื้อจุลินทรีย์ในมูลลูกสุกรได้ดี

1.3.3 แหล่งคาร์บอนที่ได้จากกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B.subtilis* TISTR 001 และ *L. plantarum* TISTR 862 ไม่สามารถใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในมูลสุกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กากถั่วเหลือง (soybean meal)

กากถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการสกัดน้ำนมถั่วเหลืองแล้ว เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มี คุณภาพสูง โดยเฉพาะสารอาหารและเส้นใยอาหาร คุณภาพกากถั่วเหลืองที่ดี ควรมีลักษณะเป็นเกล็ดบาง เบา เมื่อใช้มือบีบแล้วรู้สึก แข็ง กรอบ ไม่จับตัวเป็นก้อน มีสีที่สม่ำเสมอ ไม่มีสีที่ผิดปกติ ไม่มีกลิ่นผิดปกติ ไม่พบเชื้อราที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าไม่มีสิ่งปลอมปน มาในกากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำนมถั่วเหลืองหรือน้ำเต้าหู้ ซึ่งในขบวนการผลิตนมถั่วเหลืองนั้น เมล็ดของกากถั่วเหลืองจะต้องผ่านการต้มให้สุกก่อน ในขั้นตอนนี้จะมีการทำลายสารยับยั้งทริปซินไปด้วย สามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ โดยการที่จะนำกากถั่วเหลืองไปใช้จะต้องมีการเสริมธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัส และวิตามินบีรวม ให้เพียงพอ แต่การนำกากถั่วเหลืองมาใช้จะมีข้อจำกัดในการใช้ โดยกากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนไม่เพียงพอจะยังมีสารยับยั้งทริปซินหลงเหลืออยู่ในระดับสูง จะมีผลทำให้การย่อยได้ลดลงโดยเฉพาะในสัตว์เล็ก จะแสดงอาการโตช้าลง และยังมีสาร เฮเมกลูทินิน, ซาโพนิน และไอโซฟลาโวน

กากถั่วเหลืองเป็นอาหารแหล่งโปรตีนที่นามาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ดี เพราะมีโปรตีนสูง ถึง 34 % และเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูงมีกรดอะมิโนจาเป็น (essential amino acid) หลายชนิด แต่มี cystine และ methionine ในระดับต่ำ มีฟอสฟอรัสสูง แต่มีแคลเซียม และวิตามินบีต่ำ การใช้กากถั่วเหลืองดิบเลี้ยงสัตว์ จะทำให้สัตว์ได้รับประโยชน์จากโปรตีนไม่เต็มที่ มีการเจริญเติบโตต่ำ หรือชะงักการเจริญเติบโต เพราะกากถั่วเหลืองดิบมีสารยับยั้งการใช้ประโยชน์จากโปรตีน (trypsin inhibitor) นอกจากนี้ ยังมีเอ็นไซม์ยูรีเอส (urease enzyme) ซึ่งจะย่อยโปรตีนในเมล็ดถั่วเหลืองให้สลายไปเรื่อย ๆ ทำให้ปริมาณและคุณภาพของโปรตีนลดลงใน ขณะที่เก็บรักษาไว้ แต่สารทั้ง 2 ชนิดนี้ ถูกทำลายได้ง่ายด้วยความร้อน ดังนั้นในการนำกากถั่วเหลืองไปเลี้ยง สัตว์ จึงควรนำไปทำให้สุกหรือผ่านความร้อนเสียก่อน กากถั่วเหลืองที่ได้รับความร้อนเกินไป จะมีสีน้ำตาลคล้ำ มีกลิ่นเหม็นไหม้ ทำให้การย่อยได้ของไลซีนลดลง ไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้เลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะในสัตว์เล็ก

กากถั่วเหลืองที่ได้จากอุตสาหกรรมนมถั่วเหลืองนั้น มีปริมาณโปรตีนประมาณ 31.5% ไขมัน 8.88% เยื่อใย 12.2% โดยน้ำหนักแห้ง ในการที่จะนำเอากากถั่วเหลืองนี้มาใช้ทำเป็นอาหารสัตว์มีข้อจำกัดในเรื่องของเยื่อใยที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองเป็นตัวจำกัดการใช้กากถั่วเหลืองเป็นอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่สามารถใช้เป็นอาหารสัตว์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในสัตว์เคี้ยวเอื้องได้ โดยในสัตว์กระเพาะเดี่ยว เช่น สัตว์ปีก สุกร ที่จะนำกากถั่วเหลืองไปใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทน ระดับที่ใช้ผสมกับสูตรอาหารเข้มข้นอยู่ที่ประมาฯ 15-20% ไม่เหมาะสมที่จะใช้เป็นอาหารสัตว์ในระยะเล็ก ส่วนในสัตว์เคี้ยวเอื้อง สามารถใช้กากถั่วเหลืองบผสมกับสูตรอาหารเข้มข้นได้ถึง 40%

ภาพที่ 2.1 ลักษณะกากถั่วเหลือง
ที่มา: ปรัศนียา ใจจา (2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กากถั่วเหลืองหมัก

กากถั่วเหลืองหมัก คือกากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ เป็นวัตถุดิบที่มีศักยภาพในการนำมาใช้ทดแทนโปรตีนในอาหารสัตว์ได้ โดยส่วนใหญ่กากถั่วเหลืองที่นำมาใช้ในการหมักจะเป็นกากถั่วเหลืองชนิดกะเทาะเปลือกแล้ว (Dehulled Soybean Meal) ที่ได้ผ่านกระบวนการสกัดน้ำมันแล้วนำมาหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ โดยการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยโครงสร้างของโปรตีนในกากถั่วเหลืองให้อยู่ในรูปของเปปไทด์ที่สายสั้นลง หรือย่อยให้อยู่ในรูปของกรดอะมิโนอิสระที่มากขึ้น โดยยังพบว่ากรดอะมิโนบางชนิด เช่น กลูตามิคยังเป็นตัวที่เพิ่มรสชาติของอาหารให้น่ากินมากขึ้น เพื่อให้สัตว์สามารถย่อยและดูดซึมโปรตีนได้ง่าย สะดวก และรวดเร็วขึ้น โดยจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการหมักจะเป็นจุลินทรีย์ที่มีการคัดเลือกสายพันธุ์มาแล้วว่ามีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยโครงสร้างโปรตีนได้ เช่น *B. subtilis, L. plantarum* และ*Aspergillus* spp. เป็นต้น (ภาณุวรรณ, 2554)

การเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้สูงขึ้น สามารถทำได้ด้วยวิธีการหมักด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรียกลุ่มแลคติค, Aspergillus oryzae และ *B. subtilis* (Kiers et al.,2003) โดยมีรายงานว่ากากถั่วเหลืองที่หมักด้วย *B. subtilis* นั้นมีอัตราการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มมากขึ้นในลูกสุกรที่ได้รับอาหารกากถั่วเหลืองหมัก โดย *B. subtilis* สามารถย่อยโปรตีนสายยาวให้กลายเป็นกรดอะมิโนหรือเปปไทด์สายสั้นได้ (Yoonyi et al.,2012) สามารถปรับปรุงระบบทางเดินอาหารให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสารอาหารและในการดูดซึมอาหารได้ดีมากขึ้น

ในปัจจุบันมีการนำกากถั่วเหลืองหมักมาใช้เป็นอาหารสัตว์มากขึ้น มีการพัฒนาคุณภาพของกากถั่วเหลืองหมักให้มีคุณภาพเทียบเคียงกับปลาป่น ด้วยการใช้จุลินทรีย์ในกลุ่มบาซิลลัสมาใช้ร่วมกับจุลินทรีย์อื่นในการหมัก ทำให้สามารถย่อยโครงสร้างของโปรตีนได้ดีขึ้น รวมทั้งยังมีความสามารถในการทำลายสายต้านโภชนะได้อีกด้วย เช่น Trypsin inhibitor, Lectins เป็นต้น จึงสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

จุลินทรีย์ (microorganism) เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่ไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เช่น แบคทีเรีย อาร์เคีย รา ยีสต์ เป็นต้น จุลินทรีย์สามารถอาศัยได้ทุกสภาวะแวดล้อม เนื่องจากจุลินทรีย์สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญทั้งในแง่การเป็นประโยชน์และการเกิดโรค จุลินทรีย์หลายชนิดอาจเป็นสาเหตุของโรคพืชและสัตว์ แต่ก็ยังมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่ทำหน้าที่ป้องกัน กำจัด และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นรวมทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช นอกจากนี้ยังมีจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนทรัพยากรให้ใช้ประโยชน์ได้ใหม่ในวัฏจักรของธาตุอาหาร โดยจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยสลายวัสดุสารอินทรีย์ต่าง ๆ (Organic Decomposition) ให้เป็นธาตุอาหาร เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหารกลับมาใช้ใหม่ของสารอินทรีย์ วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร หรือเศษเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทางการเกษตร ให้กลับอยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช โดยกระบวนการย่อยสลายหรือสังเคราะห์สารชนิดอื่นๆ ขึ้นมาใหม่ในธรรมชาติ (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2553)

2.3.1 *Bacillus subtilis*

B. subtilis เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อน แกรมบวก ที่สามารถสร้างแคปซูลและสามารถสร้างเอนโดสปอร์ได้ ซึ่งสปอร์ของ *B. subtilis* นั้นเป็นโครงสร้างที่มีความทนทานต่อความร้อน ทนต่อความแห้ง สารเคมี และสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่าง ๆได้ดี โดย *B. subtilis* เป็นแบคทีเรียที่สามารถใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคพืชจากแบคทีเรียอื่นได้หลายชนิด รวมถึงป้องกันโรคพืชจากเชื้อราได้อีกด้วย *B. subtilis* นั้นเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและทำให้อาหารเน่าเสียและเกิดกลิ่นเหม็น

โดย *B. subtilis* เป็น protiolytic bacteria ที่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยโปรตีนในอาหารให้เป็นกรดอะมิโนได้ นอกจากนี้ยังสามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิด อาทิเช่น อะไมเลส (amylase) เป็นเอนไซม์ที่มีประโยชน์ในการย่อยสลายโมเลกุลของแป้ง โปรตีเอส (protease) ส่วนใหญ่จะเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic bacteria) อุณหภูมิที่เจริญได้ดีอยู่ระหว่าง 30-45 องศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง (thermophilic bacteria) ซึ่งเป็นสาเหตุการเสื่อมเสียของอาหารกระป๋อง และยังพบว่าบางสายพันธุ์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilic bacteria) และเจริญได้ในค่า pH ตั้งแต่ 2 ถึง 11 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. subtilis เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งในแง่ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย เช่น การเสื่อมเสียของเนื้อสัตว์ การเสื่อมเสียของน้ำนม การเสื่อมเสียของอาหารกระป๋อง เป็นต้น และในแง่ที่เป็นประโยชน์ เช่น การนำมาใช้ในการหมักอาหาร เช่น ถั่วเน่า หรือ นัตโตะ เป็นต้น รวมถึงเป็นแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2553)

ภาพที่ 2.2 รูปร่างลักษณะของ *Bacillus subtilis*
ที่มา: Korcsmaros (2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนเดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายสั้น ไม่สร้างสปอร์สามารถเจริญได้ในทั้งสภาวะที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติค เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและสามารถพบได้ตามธรรมชาติ และในบริเวณลำไส้ใหญ่ ช่องคลอด มีประโยชน์ช่วยในระบบย่อยอาหาร สร้างวิตามิน สร้างสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกาย กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดและหัวใจ นอกจากที่ *L. plantarum* จะเป็นประโยชน์ต่อร่างกายแล้วยังมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมอาหารอีกด้วย โดยจัดอยู่ในกลุ่มของ Lactic acid bacteria ที่มีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลแลคโทส ให้เกิดกรดแลคติก

นอกจากนี้ในทางอุตสาหกรรมอาหาร *L. plantarum* ยังมีบทบาทสำคัญในการถนอมอาหารด้วยการหมัก ใช้เพื่อการผลิตอาหารหมักได้หลายประเภท ได้แก่ ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว เนยแข็ง รวมถึงยังผลิตแอซีทาลดีไฮด์ ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสของน้ำนมหมัก และยังสร้างเอนไซม์โปรตีเอสซึ่งมีหน้าที่ในการย่อยโปรตีนในน้ำนมให้ได้กรดอะมิโน โดยเฉพาะฮิสทิดีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่สามารถกระตุ้นการเจริญของ *Streptococcus thermophiles* ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์ เช่น แหนม ไส้กรอกอีสาน ซาลามี่ ผลิตภัณฑ์หมักจากผักและผลไม้ เช่น กิมจิ ซาวเคราะห์ เป็นต้น นอกจากจะมีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมแล้ว *L. plantarum* ยังเป็นสาเหตุทำให้อาหารเสื่อมเสียของอาหารหลายชนิด เช่น ในอาหารกึ่งสำเร็จรูป เนื้อสัตว์ โดยทำให้เกิดรสเปรี้ยว และทำให้เกิดเมือกในน้ำนม เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ เช่น แฮม ไส้กรอก และ เบคอน (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, 2553)

ภาพที่ 2.3 รูปร่างลักษณะของ *Lactobacillus*
ที่มา: Rachel Zemser (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.3 *Escherichia coli*

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อน ไม่สร้างสปอร์และยังสามารถเจริญได้ทั้งในที่ที่มีอากาศและที่ไม่มีอากาศ จัดอยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่อยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์มประเภท feal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ โดย *E. coli* ส่วนใหญ่ไม่ได้เป็นจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ได้ หรือเรียกว่า Enterovirullent *Escherichia coli* (EEC group) มี 4 ประเภท คือ

2.3.3.1 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

เป็น *E. coli* ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยอาการทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลีย แหล่งที่พบคือน้ำที่ปนเปื้อน แล้วไปปนเปื้อนต่อในอาหาร หรือจากคนป่วยที่สัมผัสหรือปรุงอาหาร ถ้ารับเชื้อเข้าไปมาก จะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง

2.3.3.2 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

เป็น *E. coli* ที่ถือว่าเป็นเชื้อโรคที่ระบาด โดยมีความรุนแรงที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการขับสารพิษทั่วไปของ EEC ชนิดอื่น โดย EPEC จะแพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัว ควาย และหมู มักเป็นโรคที่เกิดกับเด็ก ทำให้อุจจาระร่วงเป็นน้ำหรือเป็นเลือด คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* อาหารที่พบเชื้อนี้คือ เนื้อวัว และเนื้อไก่ดิบ และจากน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อที่นำมาชงนมให้เด็ก และหากเด็กติดเชื้อนี้ อาจทำให้เกิดการขาดน้ำ และอัตราการเสียชีวิต

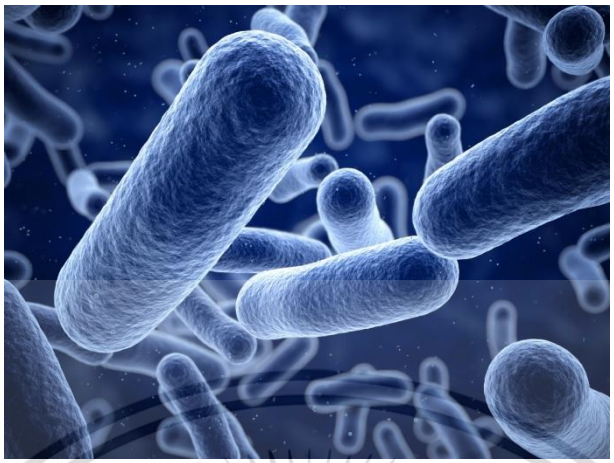
2.3.3.3 Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7

E. coli 0157:H7 สามารถสร้างสารพิษที่-เป็นประเภท verotoxin ที่คล้ายกับ shigatoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เยื่อบุของลำไส้ ความรุนแรงคือทำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบจนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงอาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี อาหารที่พบเชื้อนี้ ได้แก่ เนื้อบดหรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบ นอกจากนี้ยังอาจพบใน น้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว (dry-cured salami) ผักกาดหอม เนื้อสัตว์ป่า (game meat) และน้ำนมดิบ บางครั้งอาจมีอาการจากการที่มีสารในปัสสาวะปะปนในเลือด (hemolytic uremic syndrome: HUS) ที่มีลักษณะพิเศษคืออาจทำให้ไตวายถาวรได้

2.3.3.4 Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

ให้เกิดอาการคล้ายของโรคบิดจากเชื้อ *Shigella dysenteriae* หรือบิดมีตัว (bacillary dysentery) ทำให้ท้องร่วงโดยมีเลือดหรือมูกในอุจจาระ อาหารที่เกี่ยวข้อง คือ เนื้อแฮมเบอร์เกอร์ และน้ำนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ (ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์.2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 รูปร่างลักษณะของ *Escherichia coli*

ที่มา: Shraddha Karve (2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การหมัก (Fermentation)

การหมักเป็นกระบวนการทางเคมีภายในเซลล์ เพื่อสร้างพลังงานจากการย่อยสลายสารอินทรีย์หรือการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารประกอบอินทรีย์ด้วยเอนไซม์ โดยมีสารอินทรีย์เป็นทั้งตัวให้และรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2558)

2.4.1 แบ่งตามความต้องการอากาศหรืออกซิเจน

2.4.1.1 Aerobic fermentation เป็นการหมักที่ต้องการอากาศ เช่น การหมักกรดซิตริก และกรดน้ำส้ม เป็นต้น

2.4.1.2 Anaerobic fermentation เป็นการหมักที่ไม่ต้องการอากาศ เช่น การหมักอะซิโตนและบิวทานอล

2.4.2 แบ่งตามสภาพการควบคุมการปนเปื้อนของเชื้อ

2.4.2.1 Septic fermentation เป็นการกมักในสภาพแวดล้อมที่เปิด ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อน

2.4.2.2 Semi – septic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดเพื่อป้องกันการปนเปื้อน เชื้อจากภายนอก แต่ไม่จำเป็นต้องฆ่าเชื้อที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ

2.4.2.3 Aseptic fermentation เป็นการหมักในสภาพปิดที่ปราศจากการปนเปื้อนเชื้อทั้งหมด

2.4.3 แบ่งตามลักษณะหริปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.4.3.1 การหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermentation)

2.4.3.2 Submerge state fermentation เป็นการหมักที่ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารที่มีลักษณะเหลว

2.4.4 แบ่งตามลักษณะของกระบวนการที่ใช้

2.4.4.1 การหมักแบบไม่ต่อเนื่อง (Batch fermentation) ทำในระบบปิดที่มีสารอาหารเริ่มต้นปริมาณจำกัด เมื่อใส่จุลินทรีย์เพาะเลี้ยงลงไปในระบบแบบต่อเนื่องแล้วหลังจากนั้นจะไม่มีการเติมสารใดๆลงไปเพิ่มอีก

2.4.4.2 การหมักแบบต่อเนื่อง (Continuous fermentation) เป็นการหมักโดยที่มีการเติมอาหารใหม่ลงไป และมีการถ่ายอาหารเก่าออกมาจากระบบในอัตราส่วนเดียวกันตลอดเวลา

2.4.4.3 Fed-batch fermentation เป็นการหมักที่มีการเติมสารอาหารบางอย่างเพิ่มลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นระยะๆ

2.4.5 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมัก

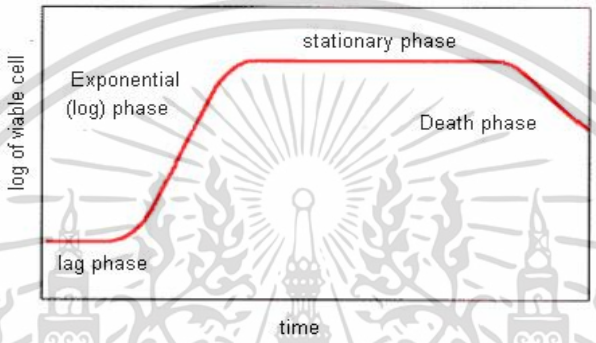
จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักอาหารนั้น มีทั้งเชื้อที่มาจากธรรมชาติ และเชื้อที่มาในรูปแบบของกล้าเชื้อ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่นำมาใช้ อาทิเช่น รา แบคทีเรีย ยีสต์ ที่มีการเพาะขึ้นมาเพื่อใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักอาหาร หรืออาจมีการผสมของเชื้อหลายพันธุ์ ซึ่งเชื้อนั้นจะอยู่ในรูปแบบของเหลวหรือในรูปแบบของผง และมีการผสมสารในการป้องกันการจับตัวเป็นก้อน เพื่อสะดวกต่อการนำมาใช้งาน

2.4.6 ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์

เมื่อนำจุลินทรีย์ใส่ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นของเหลว ทำการจัดสภาพแวดล้อมให้มีความเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ อาทิเช่น อุณหภูมิ อากาศ เมื่อจัดสภาพแวดล้อมให้มีความเหมาะสมแล้ว จะพบว่าจุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนมากขึ้น รูปแบบในการเจริญเติบโตจะแสดงใน ภาพที่



ภาพที่ 2.5 ลักษณะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในแต่ละระยะ

ที่มา: พิมพ์เพ็ญ และคณะ(2553)

2.4.6.1 ระยะพัก (Lag phase) เป็นระยะแรกที่จุลินทรีย์เริ่มพบกับอาหารและสิ่งแวดล้อมใหม่ จุลินทรีย์จะมีการปรับตัวให้กับอาหารและสิ่งแวดล้อมนั้น มีการสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสมที่จะใช้กับอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการสร้างโปรตีนและส่วนประกอบอื่น ๆที่สำคัญของเซลล์ ในช่วงท้ายๆของระยะพักนี้ เซลล์อาจจะมีขนาดที่ใหญ่ขึ้น และมีความพร้อมที่จะแบ่งตัว ในระยะนี้จะยาวหรือสั้นขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงชื้อที่นำมาใช้

2.4.6.2 ระยะแบ่งตัว (Log phase) เป็นระยะที่จุลินทรีย์มีการแบ่งตัวแบบทวีคูณ มีอัตราการเพิ่มจำนวนมากที่สุดในอัตราการเพิ่มที่คงที่

2.4.6.3 ระยะคงตัว (Stationary phase) เป็นระยะที่จุลินทรีย์มีจำนวนที่คงที่ ซึ่งแสดงว่าจุลินทรีย์ไม่มีการเพิ่มจำนวน กล่าวคือมีอัตราการเกิดและการตายที่เท่ากัน การที่จุลินทรีย์เจริญเข้าสู่ระยะคงตัวนั้นเพราะอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อใกล้หมด จุลินทรีย์จึงมีการเจริญที่ช้าลง

2.4.6.4 ระยะตาย (Death phase) เป็นระยะสุดท้ายของจุลินทรีย์ กล่าวคือจุลินทรีย์ที่มีอยู่จะมีอัตราการตายมากกว่าอัตราการเกิด ทั้งนี้เกิดจากอาหารหมดและมีสารพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ตกค้างอยู่ในปริมาณมาก ทำให้มีสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 บทความที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการหมักถั่วเหลืองเพื่อเป็นสารอาหารที่มีศักยภาพ จากการทดลองมีสายพันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ในการทำเครื่องดื่มน้ำนมถั่วเหลือง ในทดลองทั้งหมด 5 สายพันธุ์ (เชียงใหม่ 1, เชียงใหม่ 60, ราชมังคลา, Sor Jor 2, Sor Jor4 และ Sor Jor 5) โดยในเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก ด้วยเชื้อ *Lactobacillus paracasei* HII02 โดยกระบวนการหมักนำถั่วเหลืองมาฆ่าเชื้อและผสมกับน้ำตาลและน้ำกลั่นในอัตราส่วน 3:1 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณทางโภชนาการของถั่วเหลืองโดยวิธี Proximate analysis ตามวิธี AOAC ลักษณะทางเคมีที่มีค่าพีเอช ความเป็นกรด ความชื้น โปรตีนที่ละลายน้ำได้และปริมาณไขมันของน้ำถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองหมัก ค่าพีเอชของน้ำถั่วเหลืองและพบว่าน้ำถั่วเหลืองจะลดลงตลอดเวลาเปรียบเทียบกับของจุดเวลาเริ่มต้นความเป็นกรดมีการลดลงเล็กน้อยของน้ำถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองหมักตลอดการทดลอง ปริมาณความชื้นและปริมาณไขมันของน้ำถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองหมัก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงจนถึงวันสุดท้ายของการทดสอบโปรตีนละลายน้ำได้ประมาณ 4.58% และ 5.76% ตรวจพบของน้ำถั่วเหลือง ในวันแรกและวันที่ 21 ของการทดลองตามลำดับในขณะที่ประมาณ 4.79% ละลายได้ตรวจพบปริมาณโปรตีนของน้ำถั่วเหลืองหมัก ในวันแรกและประมาณ 14.06% ในวันที่ 21 ของการทดสอบ พบว่าสายพันธุ์ทั้งหมดที่ได้ทดสอบแล้ว โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใยและปริมาณแร่ธาตุองค์ประกอบทางโภชนาการของถั่วเหลืองมีการกระจายที่ค่อนข้างเท่ากัน แต่สายพันธุ์ Sor Jor2 นั้นมีค่ามากกว่า สายพันธุ์อื่น ๆ การวิเคราะห์พารามิเตอร์ทางกายภาพ สังเกตได้จากการมองเห็นและใช้เครื่องในการวัด พบว่า สี กลิ่น รส ความข่นและก๊าซของน้ำถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองหมัก สีมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน มีความเป็นกรดมากขึ้นหลังจากการหมัก 7 วัน เริ่มมีความข่นและมีตะกอนเมื่อหมักได้ 23 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติไอโซฟลาโวนของถั่วเหลืองแต่ละพันธุ์ โดยนำตัวอย่างถั่วเหลืองมาสกัดโดยไอโซฟลาโวนที่ใช้เมทานอล 80% ความเข้มข้นของ genistein, daidzein และรูปแบบ glucoside (genistin และ daidzin) ประเมินโดยของเหลวประสิทธิภาพสูง วิธี chromatography (HPLC) พบว่า รูปแบบของไอโซฟลาโวนมีปริมาณมากที่สุดในตัวอย่าง Sor Jor 2 เมื่อเทียบกับสายพันธุ์ถั่วเหลืองอื่น ๆ

ทำการทดลองซ้ำโดยใช้ถั่วเหลืองสายพันธุ์ Sor Jor 2 โดยวิเคราะห์คุณสมบัติไอโซฟลาโวนของถั่วเหลืองหมัก Sor Jor 2 พบว่า daidzein และ genistein มีการเปลี่ยนแปลงในเวลาที่แตกต่างกันระยะเวลาในระหว่างการหมัก การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ในสสารที่ไม่ผ่านการหมักและน้ำถั่วเหลืองหมัก Sor Jor 2 ถั่วเหลืองในชั่วโมงที่ 0 พบว่าเป็น 0 ในขณะที่ในวันที่ 21 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของถั่วเหลืองคือ (4.9 × 1) CFU / ml น้ำถั่วเหลืองหมักคือผลรวมจุลินทรีย์นับชั่วโมงที่ 0 และวันที่ 21 ของการทดลองตามลำดับ (1.7 × 1) และ (2.2 ×1) CFU ต่อมิลลิลิตร โคลิฟอร์มทั้งหมด (ยกเว้น SB ในวันที่ 21), ยีสต์รวมและจำนวนรา *B. cereus*,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C. perfringens, *Salmonella spp*. และ *S. aureus* เป็น 0 ในถั่วเหลืองและน้ำถั่วเหลืองหมัก ทั้งวันที่ 0 และวันที่ 21 isoflavone (daidzein และ genistein) เป็นรูปแบบที่ใช้งานมากที่สุดและดูดซึมได้ง่ายในปริมาณที่สูงขึ้นในมนุษย์เมื่อเทียบกับรูปแบบของกลูโคไซด์ของคุณสมบัติคล้ายถั่วเหลือง (daidzin และ genistin) ตรวจสอบผลของสาร isoflavone ในผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดี (3 ครั้งต่อวัน) ด้วยไอโซฟลาโวนถั่วเหลือง (ปริมาณรวมต่อวัน: 144 หรือ 288 มก. ของ isoflavone) หรืออาหารจากถั่วเหลือง (ปริมาณรวมต่อวัน: isoflavone 96 มก.) ดังนั้นการบริโภคไอโซฟลาโวนในรูปของแหล่งอาหารถั่วเหลืองจึงมีประสิทธิภาพมากกว่ารูปแบบยาเม็ดมีรายงานว่า *L. rhamnosus* CRL981 นั้นเป็นอาหารหมักดองของนมถั่วเหลืองเพิ่มรูปแบบของ isoflavones ในรูปแบบของอัลโลโลนของถั่วเหลืองหมักในการศึกษาในปัจจุบัน daidzein และ genistein ปริมาณของถั่วเหลืองหมักเพิ่มขึ้นและยังเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของนมถั่วเหลืองหมัก การศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่าการหมักของสายพันธุ์ ถั่วเหลือง Sor Jor 2 ที่มี *L. paracasei* HII02 สามารถเพิ่มขึ้นคุณภาพน้ำถั่วเหลืองโดยการคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่มีเสถียรภาพคุณสมบัติเพิ่มรูปแบบ aglycone ของถั่วเหลือง isoflavone ป้องกันการเจริญเติบโตของโคลิฟอร์มและเพิ่มขีดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเล็กน้อย

การศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพกากถั่วเหลืองหมักบนการหมักบนอาหารแข็งและผลกระทบต่อการเจริญเติบโตสมรรถภาพและการย่อยได้ของธาตุอาหารของลูกสุกรหย่านม เป็นการหมักกากถั่วเหลืองบนอาหารแข็งโดยใช้เชื้อเริ่มต้นผสม *Streptococcus thermophilus*, *Bacillus subtilis* MA139 และ *Saccharomyces cerevisiae* การทดลองครั้งแรกมีการหมักกากถั่วเหลืองที่มีสภาวะความชื้น อุณหภูมิ ระยะเวลา การบ่ม การเติมน้ำตาล การเติมโปรติเอสและการเติมอัตราส่วนโปรติเอสที่เป็นกลางกับกรดโปรติเอสที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อได้ดีขึ้น และวัดค่าพีเอชและโปรตีนรวม หากรดแลคติค, glycinin และ β-conglycinin ในกากถั่วเหลืองหมัก การเลือกสภาวะที่เหมาะสมสำหรับงานวิจัยนี้คือ สภาวะที่ทำให้กรดแลคติค, glycinin และ β-conglycinin ลดลง ซึ่งตัวแปรที่ทำให้ glycinin และ β-conglycinin คือกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติในการย่อย glycinin และ β-conglycinin เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วทำการทดลองให้อีกครั้งโดยเอาสภาวะที่เหมาะสมของการทดลองครั้งที่ 1 ทำการสุ่มลูกสุกร 72 ตัว ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 8.9 กิโลกรัม มาเลี้ยงในคอก คอกละ 6 ตัว มีทั้งหมด 6 คอก โดยควบคุมอาหารด้วยกากถั่วเหลือง 24% และกากถั่วเหลืองหมัก 6% ศึกษาการย่อยได้และความเข้มข้นของพลาสมายูเรีย N ในลูกสุกรบนอาหารกากถั่วเหลืองหมัก ไม่แตกต่างจากที่เลี้ยงด้วยอาหาร กากถั่วเหลือง ซึ่งยูเรียในพลาสมาคือดัชนีในการประเมินคุณภาพโปรตีน การให้อาหารกากถั่วเหลืองหมัก คาดว่าจะช่วยลดลงความเข้มข้นของยูเรียในพลาสมา จากการทดลองพบว่าการหมักด้วยความชื้นที่ 60% ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส การเสริมโปรตีเอส 0.3% เป็นการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการที่เหมาะสมโปรตีเอสที่เป็นกลางต่อกรดโปรตีเอสอัตราส่วน 3: 1 บ่มเป็นเวลา 5 วัน และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีการเติมน้ำตาลทรายแดง เพื่อไม่ได้ส่งผลกระทบต่อ glycinin และ β-conglycinin ในกากถั่วเหลืองหมัก และอุณหภูมิการบ่มที่เหมาะสม ความชื้นเริ่มต้นมากขึ้นและการเสริมด้วยโปรตีเอสเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อให้ได้กากถั่วเหลืองที่มีคุณภาพดี การให้อาหารอาหารที่มีกากถั่วเหลืองหมัก 6% สามารถส่งผลให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตที่มากขึ้นในลูกสุกรหย่านม

การศึกษาการคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือกเชื้อ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophiles* การคัดเลือกจุลินทรีย์เฉพาะ *Lactobacillus plantarum* จากแบคทีเรียที่ผสมในโยเกิร์ต ซึ่งเป็นเรื่องยากในการแยกจุลินทรีย์เนื่องจากจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตมีสภาพในการเจริญเติบที่คล้ายกัน ในงานวิจัยนี้ในความเฉพาะของอาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะที่เหมาะสมในการแยกเชื้อ *Lactobacillus plantarum* จากโยเกิร์ต โดยใช้เชื้อต่อไปนี้ *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* ในการทดสอบเพื่อระบุสายพันธุ์ของ ในการทดลองมีอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 10 ชนิด M17 agar, MRS agar ปรับค่า pH 5.6; 5.2 และ 6.2 ดัดแปลง MRS agars ที่มีน้ำตาลต่างกัน (Penta, Prague, Czech Republic) ที่ความเข้มข้น 20 g / l แทนน้ำตาลกลูโคส MRS agar ที่มีมอลโตส (M-MRS) ด้วยซอร์บิทอล (S-MRS), กับแมนนิทอล (MA-MRS), ซูโครส (SU-MRS) และกาแลคโตส (GA-MRS) และMRS agar กับ vancomycin (20 mg/l, VA-MRS) ทั้งหมดนี้ที่ pH 5.6 เลี้ยงเชื้อบนอาหารเหลว 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นทดสอบความเฉพาะของอาหารเลี้ยงโดยการนำเชื้อที่เลี้ยงไว้ มาเลี้ยงต่อบนอาหารบนแข็งภายใต้สภาวะมีอากาศและสภาวะไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ โดยนำเชื้อจากการทดสอบมาเลี้ยงในอาหารเหลวใช้อาหาร 5 ชนิดในการทดสอบ (MRS 5.6, M17, MRS 5.2, GA-MRS และ VA-MRS) โดยวิธี pour plate เลี้ยงภายใต้สภาวะมีอากาศและสภาวะไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลัง นั้นนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น จากการทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar กับ vancomycin (20 mg / l, pH 5.6) และการเลี้ยงเชื้อที่ 30 องศาเซลเซียส แบบใช้อากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมงสามารถนับโคโลนี *L. plantarum* ในโยเกิร์ตที่มีจุลินทรีย์อื่นผสมอยู่ได้ ซึ่งมีผลตรงกันข้ามกับวิธีมาตรฐานสำหรับการนับโคโลนี ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อควรเพิ่มอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส เพื่อแยก *L. plantarum* และระบุ *L. delbrueckii subsp bulgaricus* บน MRS agar pH 5.2 และ *S. thermophilus* บน M17 agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 กากถั่วเหลืองจากบริษัท แลคตาซอย จำกัด

3.1.1.2 เชื้อ *B. subtilis* TISR001

3.1.1.3 เชื้อ *L. plantarum* TISTR862

3.1.2 สารเคมี

Media

Tryptone, Merck, Germany

Yeast extract, Scharlau, Spain

NaCl, CARLO, Itraly

Agar, TMMWDIA, India

MRS agar, HiMedia, India

EMB agar, Levine, HiMedia, India

Glycerol, KemAus, Spain

Proximate analysis

Conc. Sulfuric acid

copper sulfate, AR, Belgium

potassium sulfate, AR, Belgium

Sodium hydroxide, Merck, Germany

Hydrochloric acid, Fluka, Netherlands

Boric acid, AR, United State of America

Methyl red, Ajax Finechem, Australia

Methyl blue, Ajax Finechem, Australia

Petroleum ether, Merck, Germany

n-Octanol, Sigma, China

Acetone, MITSUL, Singapore

Celite

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3,5–dinitro salicylic acid (DNS) , Sigma, China

Phenol, Merck, Germany

Sodium Potassium Tartrate, AR, Thailand

Sulphuric acid, CARLO EBRA, Italy

3.2 วัสดุอุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl Apparatus)

เครื่องกลั่นโปรตีน (Digestion Apparatus)

ลูกแก้ว (Boiling chip)

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

บีกเกอร์ไขมัน (Soxhlet apparatus)

โถดูดความชื้น (Desiccator)

ทิมเบิล (Thimble)

ถ้วยอะลูมิเนียม (Aluminum can)

ตู้อบไฟฟ้า (Hot air oven)

ถ้วยกระเบื้อง (Crucible)

เตาเผา (Muffle furnace)

เตาไฟฟ้า (Hot plate)

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker incubator)

เครื่องผสมสาร (Vortex)

เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)

หลอดCentrifuge ขนาด 15และ50 มิลลิลิตร

Dropper

ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 2 5 10และ 50 มิลลิลิตร

คิวเวต (Cuvette)

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

ขวดปรับปริมาตร (Volume) ขนาด 100 1000 และ2000 มิลลิลิตร

ตู้ดูดควัน (Hood)

เครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (Evaporator)

เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge)

เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dry)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หม้อนึ่งอัดน้ำ (Autoclave)
ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Incubator)
เครื่องวัดค่ากรด-ด่าง (pH meter)
ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow Clean Bench)
เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (Fiber Extraction apparatus)
อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมกากถั่วเหลือง

นำกากถั่วเหลืองแบ่งใส่ถุงพลาสติกปริมาณ 1000 กรัม จากนั้นนำกากถั่วเหลืองไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Auto clave ที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3.2 การหาความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 นำเชื้อ 1 ลูป เลี้ยงลงในอาหาร Luria-Bertani (LB Broth) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกล้าเชื้อที่ได้มาเลี้ยงในอาหาร Luria-Bertani (LB Broth) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร เข้าเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที และนำเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 นำเชื้อ 1 ลูป เลี้ยงลงในอาหาร de Man Rogosa and Sharpe broth (MRS Broth) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร ปิดด้วยพาราฟิล์มเพื่อสร้างสภาวะไม่ใช้อากาศ แล้วนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกล้าเชื้อที่ได้มา เลี้ยงลงในอาหาร MRS Broth ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำเข้าตู้บ่มอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างปริมาณ 10 มิลลิลิตร ทุก ๆ 1 ชั่วโมง 30 นาที ทั้งหมด 6 จุด ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

นำตัวอย่างเชื้อ *B. subtilis* TISR001 และ *L. plantarum* TISTR862 ทุก ๆ จุดมาวิเคราะห์หาความเข้มข้นของการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อใช้ในการหมักกากถั่วเหลือง โดยนำตัวอย่างเชื้อปริมาณ 5 มิลลิลิตร มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร โดยมี Blank ที่ใช้ในการวัดคืออาหารเลี้ยงเชื้อ LB Broth, MRS Broth ตามลำดับ จากนั้นบันทึกผลการทดลองและทำกราฟความเข้มข้นของเชื้อจุลินทรีย์ต่อเวลา และหาความเข้มข้นของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยนับจำนวนโคโลนี นำตัวอย่างเชื้อ*B. subtilis* TISR001 มาปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร เลี้ยงบนอาหาร LB agar โดยวิธี spread plate จากนั้นนำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และตัวอย่างเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงบนอาหาร MRS agar นำเข้าตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ระดับเจือจางทั้งหมด 10^9 บันทึกผลทดลองโดยการนับจำนวนโคโลนี ในช่วง 30-300 โคโลนี ในหน่วย CFU/ml

3.3.3 การเตรียมกล้าเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมกล้าเชื้อโดยการเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ที่มีความเข้มข้น 2.6×10^{10} CFU/ml และเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ที่มีความเข้มข้น 1.6×10^9 CFU/ml โดยแบ่งกล้าเชื้อหลอดละ 10 มิลลิลิตร แล้วนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 6000 รอบ เป็นเวลา 10 นาที นำตะกอนเชื้อผสมกับน้ำเกลือ 0.85% ในปริมาตร 150 มิลลิลิตรต่อกากถั่วเหลือง 1,000 กรัม ในอัตราส่วนของเชื้อที่กำหนดไว้ (อัตรากล้าเชื้อ 1 ส่วนเท่ากับ 40 มิลลิลิตร)

3.3.4 การหมักกากถั่วเหลือง

นำกากถั่วเหลืองที่ฆ่าเชื้อ โดยใช้กากถั่วเหลืองในการทดลองละ 1,000 กรัม ซึ่งในแต่ละการทดลองมีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในถุงที่มีสภาวะไม่ใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 2 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในกล่องพลาสติกที่มีสภาวะใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 3 นำเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในถุงที่มีสภาวะไม่ใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.356 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 4 นำเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในกล่องพลาสติกที่มีสภาวะใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.356 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 5 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 1 ต่อ 1 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในถุงที่มีสภาวะไม่ใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร และ 1.356 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 6 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 1 ต่อ 1 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในกล่องพลาสติกที่มีสภาวะใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร และ 1.356 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 7 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 2 ต่อ 1 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในถุงที่มีสภาวะไม่ใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 3.516 มิลลิลิตร และ 1.356 มิลลิลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 8 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 2 ต่อ 1 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในกล่องพลาสติกที่มีสภาวะใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 3.516 มิลลิลิตร และ 1.356 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 9 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 1 ต่อ 2 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในกล่องพลาสติกที่มีสภาวะใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร และ 2.712 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 10 นำเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ต่อ *L. plantarum* TISTR862 ในปริมาณเชื้อ 1 ต่อ 2 มาฉีดพ่นลงบนกากถั่วเหลือง และทำการหมักในถุงที่มีสภาวะไม่ใช้อากาศ ใช้เชื้อปริมาณ 1.758 มิลลิลิตร และ 2.712 มิลลิลิตร ตามลำดับ

การทดลองที่ 11 กากถั่วเหลืองเป็นตัวควบคุมทำการหมักกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากที่หมักเสร็จ นำกากถั่วเหลืองทั้งหมดไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างไปวิเคราะห์ต่อไป

3.3.5 การสกัดคาร์โบไฮเดรต

นำกากถั่วเหลืองที่อบแล้วมาละลายกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารที่สกัดได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ 15000 รอบต่อ 15 นาที แล้วนำส่วนใสไปทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการ Evaporator ให้ส่วนใสเหลือ 100 จาก 1000 มิลลิลิตร ก่อนนำตัวอย่างอย่างไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก และการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิก

3.3.6 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.3.6.1 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก)

ชั่งกลูโคสมาตรฐาน 0.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้น 100ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานมีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 5 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล 5% ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าแรงๆ และทิ้งไว้ 10 นาที แล้วนำไปหาความเข้มข้นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และบันทึกผลการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6.2 วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (วิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิก)

ชั่งกลูโคสมาตรฐาน 0.01 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะมีความเข้มข้น 1ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐานหลอดละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิก 1 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดทดลองไปแช่ในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำเย็นทันที เมื่อหลอดทดลองเย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นลงในหลอด หลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร และบันทึกผลการทดลอง

3.3.6.3 การวิเคราะห์แบบประมาณ Proximate analysis (AOAC, 1995)

3.3.6.3.1 วิเคราะห์โปรตีน

โดยชั่งกากถั่วเหลืองหมัก 1 กรัม ตัวเร่ง 10 กรัม แล้วนำมาย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก 25 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้ว Boiling chip 3 ลูก จากนั้นนำไปกลั่นในสภาวะเบสโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซค์ 32 เปอร์เซ็นต์ จะได้ก๊าซแอมโมเนียผ่านก๊าซแอมโมเนียลงในสารละลายกรดบอลิก (H_3BO_3) 2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อกรดจะได้จับตัวกับก๊าซแอมโมเนียแล้วนำสารละลายที่ได้ไปไทเทรตกับกรด ก็ทราบปริมาณของกรดที่ใช้คำนวณหาปริมาตรไนโตรเจนทั้งหมดดังสมการ

$$\text{การคำนวณเปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหาร} = \left[\frac{(A-B) \times N \times 14}{W \times 1000} \times 100\right] \times 6.25$$

A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮเดรตคลอริกที่ไตเตรทกับแบลงค์

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

W = น้ำหนักขงตัวอย่าง (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6.3.2 วิเคราะห์ไขมัน

อบถ้วยกระเบื้อง (Crucible) พร้อมกับลูกแก้ว (Boiling chip) ที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ชั่งกากถั่วเหลืองหมักที่บดละเอียดแล้ว นำไปอบไล่ความชื้น 5-10 กรัม บันทึกน้ำหนักและห่อด้วยกระดาษกรองใส่ในหลอดกระดาษกรอง (Thimble) จากนั้นตวงตัวทำละลายปิโตเลียมอีเทอร์140-180 มิลลิลิตร ใส่ในถ้วยกระเบื้องไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 30 นาที แล้วนำถ้วยกระเบื้องใส่ในโถดูดความชื้นเพื่อรอให้เย็นก่อนนำไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{W_2 - W_1}{W \times 100}$$

W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักของคูซิเบิลแก้วที่มีไขมันก่อนสกัด

W_2 = น้ำหนักของคูซิเบิลแก้วที่มีไขมันหลังสกัด

3.3.6.3.3 วิเคราะห์ความชื้น

อบถ้วยอลูมิเนียมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง ใส่ในโถดูดความชื้นรอให้เย็นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก ใส่กากถั่วเหลืองที่บดแล้วลงในถ้วยอลูมิเนียม 3-5 กรัม บันทึกน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียมกับตัวอย่างนำเข้าไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วยอลูมิเนียม เมื่อครบเวลานำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(W_1 - W_2)}{W} \times 100$$

W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักอลูมิเนียมที่มีตัวอย่างก่อนการอบ

W_2 = น้ำหนักอลูมิเนียมที่มีตัวอย่างการอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6.3.4 วิเคราะห์เถ้า

เผาถ้วยกระเบื้องในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงแล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก จากนั้นชั่งกากถั่วเหลืองที่บดแล้ว 3 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเผาตัวอย่างบนเตาไฟฟ้าจนหมดควัน และนำไปเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมงขึ้นไป หรือจนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาว รอให้เตาเผาเย็นลงจึงคีบถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาทำให้เย็นในโถความชื้นจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องหลังเผาและคำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้าดังสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{\left(W_2 - W\right)}{\left(W_1 - W\right)} \times 100$$

W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและกากถั่วเหลืองหลังอบแห้ง

W_2 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและเถ้าหลังเผา

3.3.6.3.5 วิเคราะห์ใยอาหาร

เผาถ้วยกระเบื้องในเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมงแล้วทำให้เย็นลงในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำกากถั่วเหลืองที่ผ่านการไล่ไขมันแล้ว 1 กรัม ใส่ลงในถ้วย Crucible ใยอาหาร เติม Celite 0.5 กรัม นำเข้าเครื่องย่อยใยอาหาร จากนั้นเติม Sulphuric acid ที่อุ่นๆประมาณ 150 มิลลิลิตร เติม n-Octanoal เพื่อป้องกันการเกิดฟอง ปล่อยจนกรดเดือดให้จับเวลาครึ่งชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้ปล่อยกรดออกจากเครื่องแล้วล้างกรดด้วยน้ำกลั่นอุ่น 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร จากนั้นเติมSodium hydroxide ที่อุ่นๆ ประมาณ 150 มิลลิลิตร เติม n-Octanoal ปล่อยจนด่างเดือดให้จับเวลาครึ่งชั่วโมง เมื่อครบเวลาปล่อยกรดออกจากเครื่องแล้วล้างกรดด้วยน้ำกลั่นอุ่น 3 ครั้ง ครั้งละ 30 มิลลิลิตร ต่อมาล้างด้วย Acetone ประมาณ 25 มิลลิลิตร ทำการกรองจนแห้ง จากนั้นนำถ้วย Crucible ออกจากเครื่องแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงทำการชั่งน้ำหนักถ้วยหลังอบ จากนั้นนำไปเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงทำการชั่งน้ำหนักถ้วยหลังเผา นำผลที่ได้มาคำนวณตามสมการดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ใยอาหาร} = \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100$$

W_0 = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักถ้วย Crucible หลังอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส

W_2 = น้ำหนักถ้วย Crucible หลังจากเผาที่อุณหภูมิ 525 องซาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก

จำนวนเชื้อเริ่มต้นในการหมักของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 คือ 2.6 x 10^{10} CFU/ml โดยนำเชื้อมาหมักกากถั่วเหลืองที่สภาวะมีอากาศและสภาวะไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในการตรวจหาเชื้อที่อาจจะปนเปื้อนในการหมักที่เกิดขึ้น โดยใช้อาหาร EMB agar ด้วยวิธี Spread plate เพื่อตรวจหาเชื้อ *E. coli* แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่เกิดขึ้นใน **ตารางที่ 4.1** ซึ่งการหมักกากถั่วเหลืองของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะที่มีอากาศ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*

ตารางที่ 4.1 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001 ในกากถั่วเหลืองหมักทั้งสองสภาวะ

สภาวะ	เจือจาง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)		เฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)	เฉลี่ย (x 10^8 CFU/ml)	Log (CFU/ml)
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2			
มีอากาศ	10^{-7}	80	70	75	1.28 ± 6.011	8.1072
	10^{-8}	47	40	44		
ไม่มีอากาศ	10^{-7}	0	1	1	0.027 ± 0.7071	5.431
	10^{-8}	1	0	1		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก

จำนวนเชื้อเริ่มต้นในการหมักของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 คือ 1.6×10^9 CFU/ml โดยนำเชื้อมาหมักกากถั่วเหลืองที่สภาวะมีอากาศและสภาวะไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจจำนวนเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 โดยใช้อาหาร MRS agar ด้วยวิธี Pour plate และในการตรวจหาเชื้อที่อาจจะปนเปื้อนในการหมักที่เกิดขึ้น โดยใช้อาหาร EMB agar ด้วยวิธี Spread plate เพื่อตรวจหาเชื้อ *E. coli* แสดงจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่เกิดขึ้น แสดงใน**ตารางที่ 4.2**

ตารางที่ 4.2 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR862 ทั้งสองสภาวะ

สภาวะ	เจือจาง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)		เฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)	เฉลี่ย ($\times 10^7$ CFU/ml)	Log (CFU/ml)
		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2			
มีอากาศ	10^{-6}	0	0	0	0	-
	10^{-7}	0	0	0		
	10^{-8}	0	0	0		
ไม่มีอากาศ	10^{-6}	67	57	62	7.9 ± 5.19	7.898
	10^{-7}	129	132	131		
	10^{-8}	29	38	34		

ในการทดลองจุลินทรีย์ *L. plantarum* สามารถเจริญเติบได้ที่สภาวะไม่มีอากาศและไม่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะมีอากาศได้ เนื่องจากเป็นสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยงานวิจัยพบว่าการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกบนถั่วเหลืองสายพันธุ์ Sor Jor 2 ทำให้ไอโซฟลาโวนในรูปแบบของไอโซฟลาโวน (daidzein และ genistein) มีประมาณมากที่สุด เพิ่มรูปแบบของไอโซฟลาโวนในรูปแบบ aglycone ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปรับปรุงคุณภาพของถั่วเหลืองหมัก และจากการตรวจสอบจุลินทรีย์ในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองหมักในวันแรกและวันที่สิ้นสุดการหมัก การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น โคลิฟอร์มทั้งหมด, ยีสต์รวมและจำนวนรา *Bacillus cereus*, *Costridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *S. aureus* เป็น 0 ในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองหมัก ทั้ง 0 และวันที่ 21 สรุปได้ว่าการหมักถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรียแลคติกสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของโคลิฟอร์มในถั่วเหลืองหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำผลทดลองมาเปรียบเทียบพบว่า เชื้อ *E. coil* เนื่องจากสภาวะการเจริญเติบโตไม่เหมาะสมมีค่า pH ที่ไม่เหมาะสมและมีเชื้อ *L. plantarum* มายับยั้งการเจริญเติบตั้งงานวิจัยได้นำมาอ้างอิง

4.3 การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ร่วมกับ *L. plantarum* TISTR862 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ และเชื้อจุลินทรีย์ที่พบหลังจากการหมัก

จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเริ่มต้นในการหมักของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 คือ 2.5 x 10^9 CFU/ml และ *L. plantarum* TISTR862 คือ CFU/ml โดยนำเชื้อมาหมักกากถั่วเหลืองในสภาวะที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในการตรวจหาเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 โดยใช้อาหาร MRS agar ด้วยวิธี Pour plate และเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจจะปนเปื้อนจากการหมัก ตรวจหาจำนวนเชื้อ *E. coli* โดยใช้อาหาร EMB agar ด้วยวิธี Spread plate ที่เกิดขึ้น แสดงใน**ตารางที่ 4.3** ซึ่งตรวจหาเชื้อที่ปนเปื้อนบนอาหาร EMB agar ในแต่ละอัตราการผสมเชื้อเริ่มต้น ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E. coli*

ตารางที่ 4.3 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR862 ในการหมักกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ร่วมกับ *L. plantarum* TISTR862 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ

สภาวะ	อัตราผสมเชื้อ	เจือจาง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony) ซ้ำที่ 1	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony) ซ้ำที่ 2	เฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)	เฉลี่ย (x10^8CFU/ml)	Log (CFU/ml)
มีอากาศ	1:1	10^{-7}	0	0	0	0	0
		10^{-8}	0	0	0		
ไม่มีอากาศ	1:1	10^{-7}	236	250	243	$5.8^a \pm 9.899$	8.7634
		10^{-8}	109	109	109		
มีอากาศ	1:2	10^{-7}	0	0	0	0	0
		10^{-8}	0	0	0		
ไม่มีอากาศ	1:2	10^{-7}	2	1	2	$0.1^b \pm 0.707$	7
		10^{-8}	5	3	4		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะ	อัตราผสมเชื้อ	เจือจาง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)		เฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)	เฉลี่ย ($x10^8$CFU/ml)	Log (CFU/ml)
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2			
มีอากาศ	2:1	10^{-7}	276	200	238	$4.1^a \pm 3.740$	8.6127
		10^{-8}	2	16	9		
ไม่มีอากาศ	2:1	10^{-7}	0	0	0	0	0
		10^{-8}	0	0	0		

ในการวิจัยพบว่า การหมักแบบ solid-state ของถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อ *L. plantarum* P-8 ผสมกับ *Bacillus subtilis natto* จากการตรวจสอบทางจุลชีววิทยาของถั่วเหลืองหมักร่วมกับแบคทีเรียกรดแลคติก มีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 24 ชั่วโมงถึง 36ชั่วโมง จากนั้นเข้าสู่ระยะ stationary phase และ *B. subtilis natto* ส่งผลให้จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกเพิ่มขึ้น โดย*B. subtilis natto* สามารถผลิตได้ catalase ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นการเจริญเติบโตคล้ายกับ *lactobacilli* หลังจากหมักได้ 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีตัวอย่างที่หมักด้วย *L. plantarum* P-8 ผสมกับ *B. subtilis natto* ได้ 2.19 CFU / ml (ShanTing Zhang,)

จะเห็นได้ชัดในผลการทดลองว่า มีจำนวนโคโลนีของเชื้อ *L. plantarum* เจริญในการอาหารMRS ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ เกิดขึ้น ในทางกลับกันสภาวะที่มีอากาศไม่มีการเจริญเติบของเชื้อจุลินทรีย์ ตามในงานวิจัย การคัดแยกสายพันธุ์ที่ผสมในโยเกิร์ตพบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* โดยเลี้ยงด้วยอาหาร MRS ผสม vancomycin (20 mg / l) ที่ค่า pH 5.6 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถแยกสายพันธุ์ออกจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ผสมกับโยเกิร์ตตัวอื่นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001 ในการหมักกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ซึ่งเลี้ยงแบบ Mixed culture ทั้งสองสภาวะ

สภาวะ	อัตราผสมเชื้อ	เจือจาง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)		เฉลี่ยจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (colony)	เฉลี่ย ($x10^8$CFU/ml)	Log (CFU/ml)
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2			
มีอากาศ	1:1	10^{-7}	10	8	9	$0.027^{d} \pm 1.414$	6.4314
		10^{-8}	0	0	$<10^{1}$		
ไม่มีอากาศ	1:1	10^{-7}	25	20	23	$0.56^{c} \pm 3.535$	7.7481
		10^{-8}	12	10	11		
มีอากาศ	1:2	10^{-7}	32	29	31	$2.03^{b} \pm 2.121$	8.3075
		10^{-8}	85	97	91		
ไม่มีอากาศ	1:2	10^{-7}	>300	>300	TNTC	$0.25^{a} \pm 0.000$	7.3980
		10^{-8}	5	4	5		
มีอากาศ	2:1	10^{-7}	1	1	1	$0.05^{e} \pm 0.000$	6.6980
		10^{-8}	2	1	2		
ไม่มีอากาศ	2:1	10^{-7}	>300	>300	TNTC	$0.6^{a} \pm 0.0000$	7.7782
		10^{-8}	35	36	36		

ในการวิจัยพบว่า การหมักกากถั่วเหลืองของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้อากาศร่วมกับแบคทีเรียแบบไม่มีอากาศในการหมักกากถั่วเหลือง ของเชื้อเริ่มต้น *Streptococcus thermophilus*, *B. subtilis* MA139 และ *Saccharomyces cerevisiae* โดย *S. cerevisiae*ใช้เพื่อกำจัดออกซิเจนภายเพื่อสร้างสภาพที่ไม่มีออกซิเจน สำหรับ *B. subtilis* MA139 ที่สามารถสังเคราะห์สารต่อต้านจุลินทรีย์และป้องกันการเติบโตของ *Enterobacteriaceae* และ *S. thermophilus* ซึ่งเป็น thermoduric homofermentative แบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้โดยทั่วไปในการผลิตโยเกิร์ตเพื่อใช้ในการย่อยกากถั่วเหลือง จากกากทดลอง *Bacillus subtilis* สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่ไม่มีอากาศได้

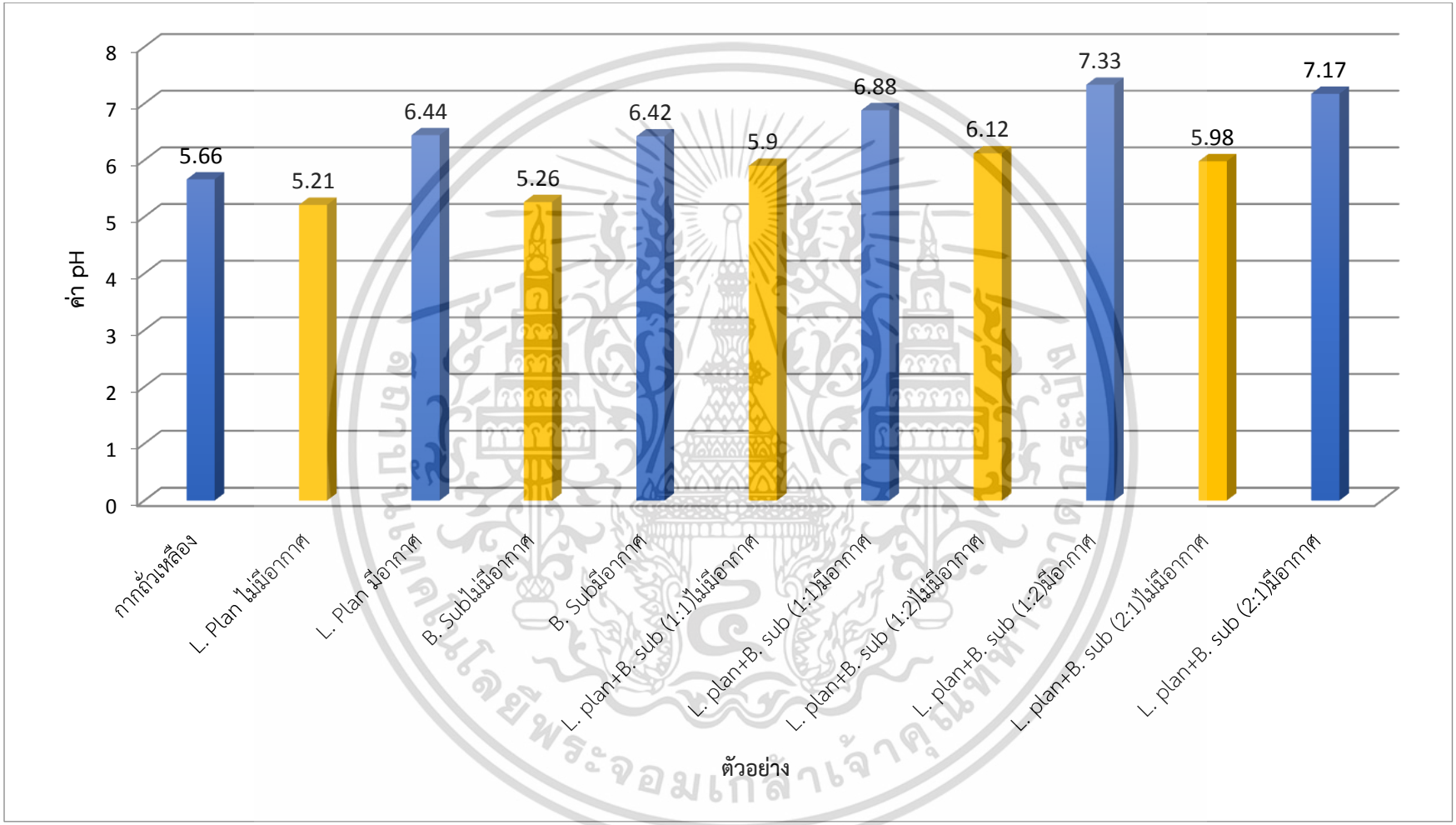
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรดเบสของกากถั่วเหลืองหลังหมัก

ตัวอย่าง	ค่า pH
กากถั่วเหลือง	$5.66^{f} \pm 0.106$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$5.22^{g} \pm 0.078$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	$6.44^{c} \pm 0.071$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001ในสภาวะไม่มีอากาศ	$5.26^{g} \pm 0.113$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001ในสภาวะมีอากาศ	$6.42^{c} \pm 0.134$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$5.90^{e} \pm 0.042$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	$6.88^{b} \pm 0.021$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$6.12^{d} \pm 0.050$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	$7.33^{a} \pm 0.056$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$5.98^{de} \pm 0.078$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	$7.17^{a} \pm 0.050$

หมายเหตุ : $^{a-g}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แผนภูมิแท่งแสดงค่า pH ของกากถั่วเหลือง, กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศและกากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ

แสดงให้เห็นว่าการหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis* มีการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* ในสภาวะที่ไม่มีอากาศทำให้มีค่า pH ที่ต่ำ เนื่องจากจุลินทรีย์มีการสร้างกรดแลคติกเกิดขึ้น เมื่อเทียบกกับกากถั่วเหลือง และการเจริญเติบโตของ *Bacillus subtilis* ที่มีค่า pH ที่สูงขึ้น ซึ่งเป็นค่า pH ที่อยู่ในช่วง 6-7 ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* (นิธิยา รัตนาปนนท์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และจำนวน DP ของตัวอย่างกากถั่วเหลืองหมักและกากถั่วเหลือง

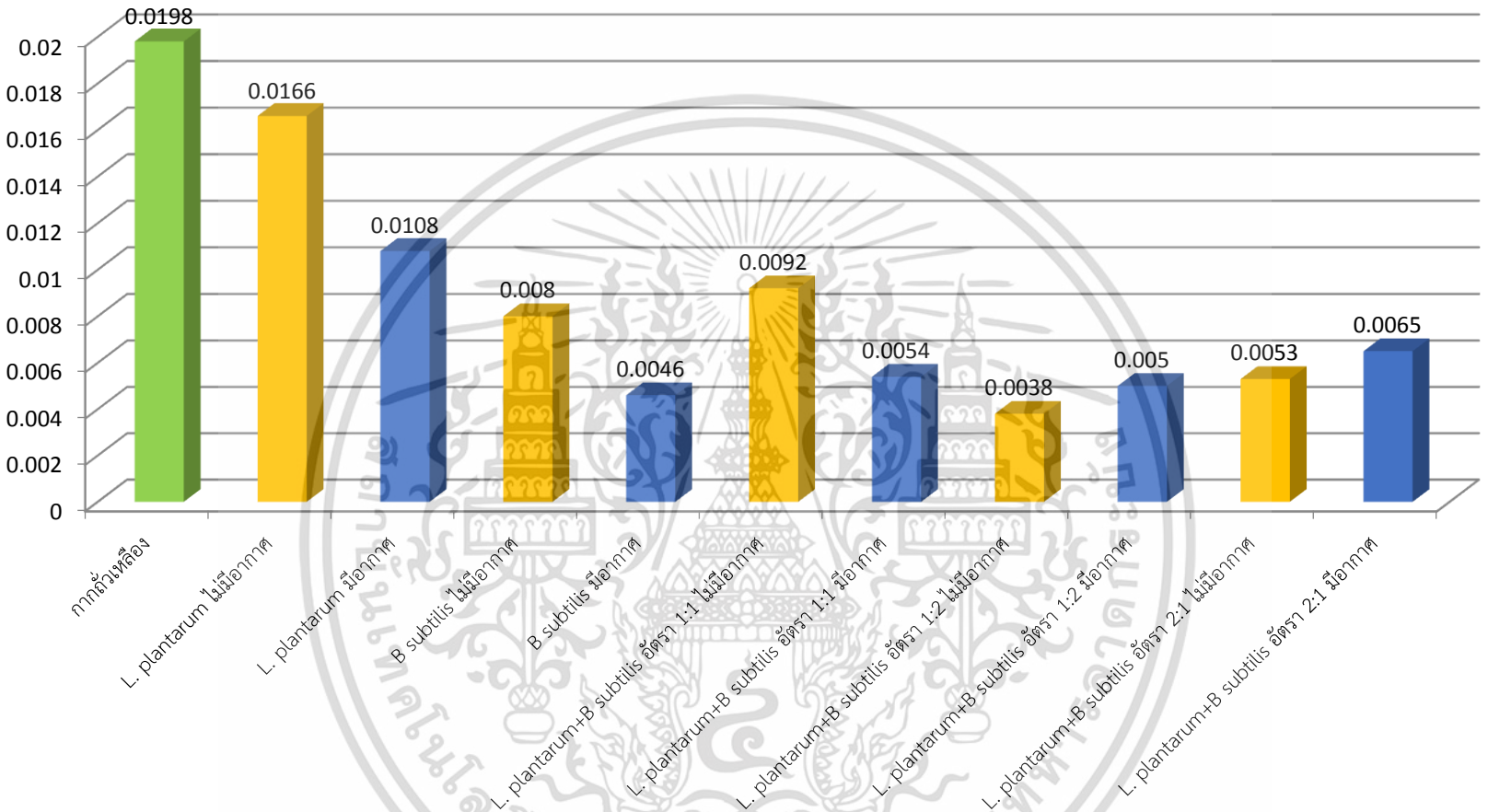
ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (g/g)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g)	Degree polymerization (DP)
กากถั่วเหลือง	$0.0198^{a} \pm 0.000$	$0.00049^{bc} \pm 0.0000$	$40.7652^{c} \pm 0.496$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$0.0166^{b} \pm 0.002$	$0.00031^{cd} \pm 0.0005$	$54.3820^{a} \pm 1.630$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	$0.0108^{c} \pm 0.001$	$0.0013^{a} \pm 0.0001$	$8.3926^{g} \pm 0.413$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$0.0080^{de} \pm 0.000$	$0.00016^{d} \pm 0.0001$	$50.0679^{b} \pm 3.030$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศ	$0.0046^{fg} \pm 0.009$	$0.00050^{bc} \pm 0.0001$	$9.1517^{fg} \pm 0.319$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$0.0092^{cd} \pm 0.001$	$0.00064^{b} \pm 0.0004$	$13.5849^{ef} \pm 0.783$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	$0.0054^{fg} \pm 0.001$	$0.00019^{d} \pm 0.0000$	$28.3079^{d} \pm 2.471$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$0.0038^{g} \pm 0.001$	$0.00044^{bc} \pm 0.0005$	$8.5879^{g} \pm 2.730$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

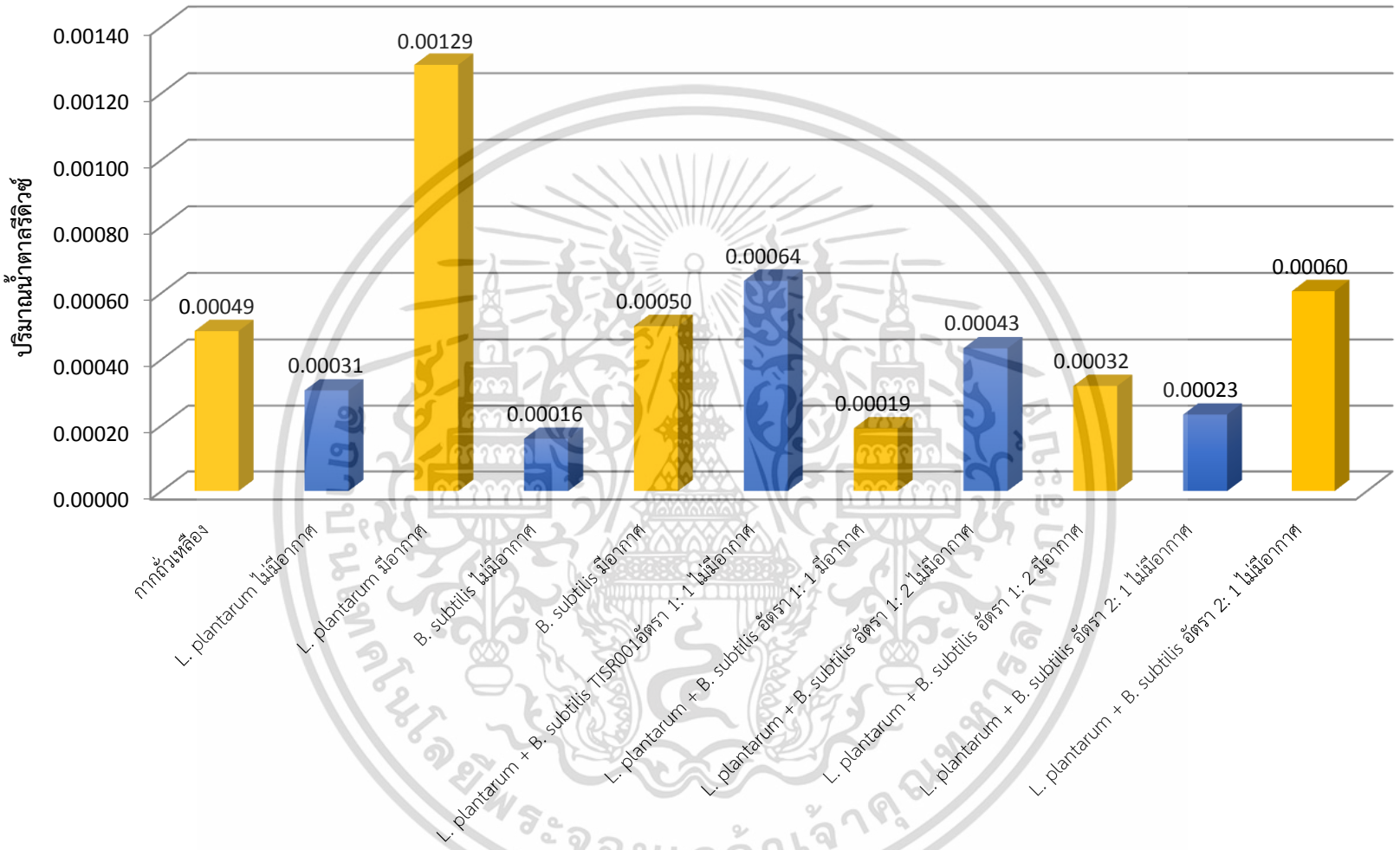
ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (g/g)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (g/g)	Degree polymerization (DP)
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	$0.0050^{fg} \pm 0.001$	$0.00032^{cd} \pm 0.0001$	$16.6231^{e} \pm 2.730$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	$0.0053^{fg} \pm 0.000$	$0.00024^{d} \pm 0.0000$	$22.8144^{de} \pm 1.113$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 อัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	$0.0065^{ef} \pm 0.0009$	$0.00061^{b} \pm 0.000$	$10.9009^{fg} \pm 1.452$

หมายเหตุ : $^{a-g}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

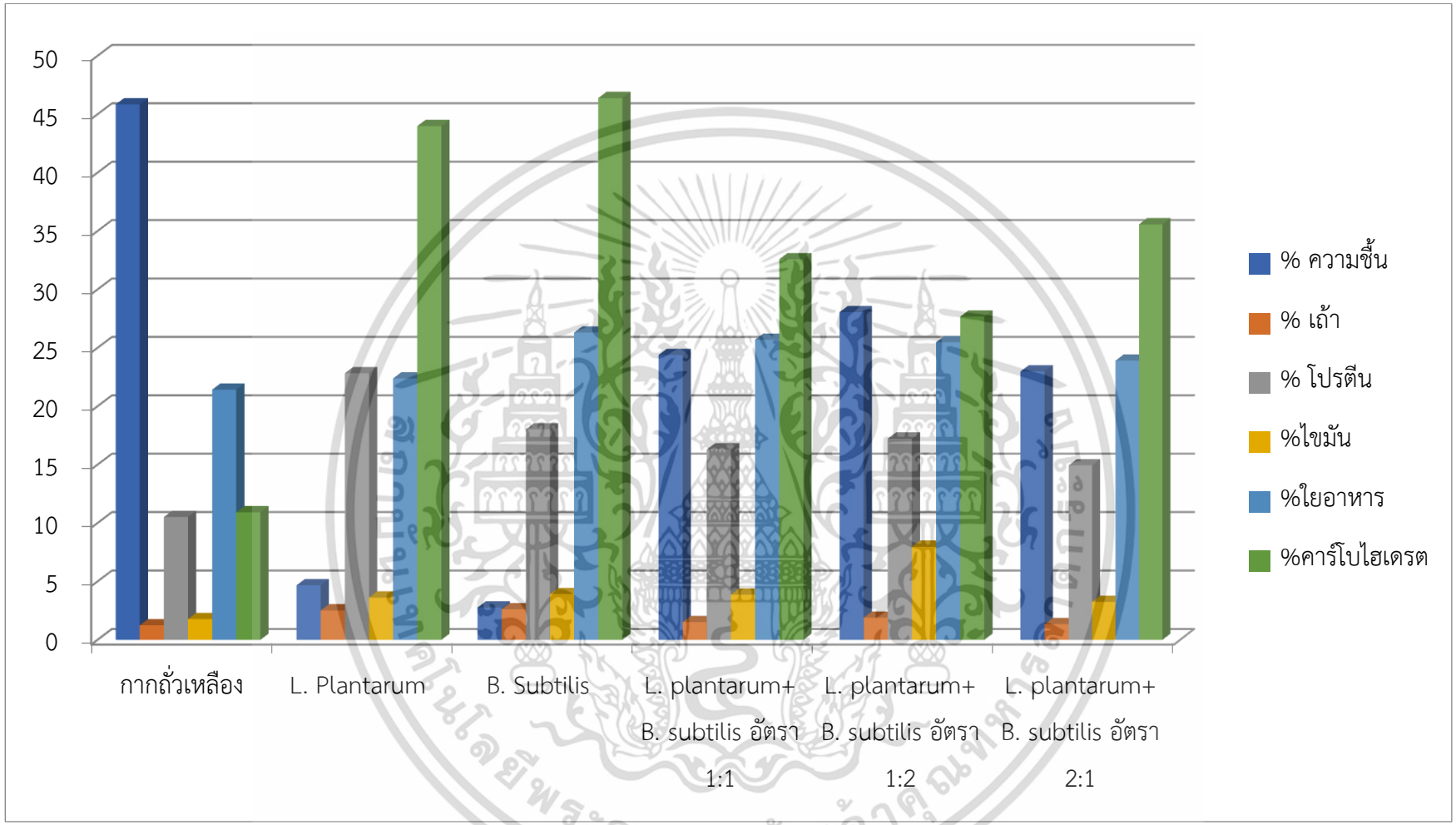


ภาพที่ 4.3 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

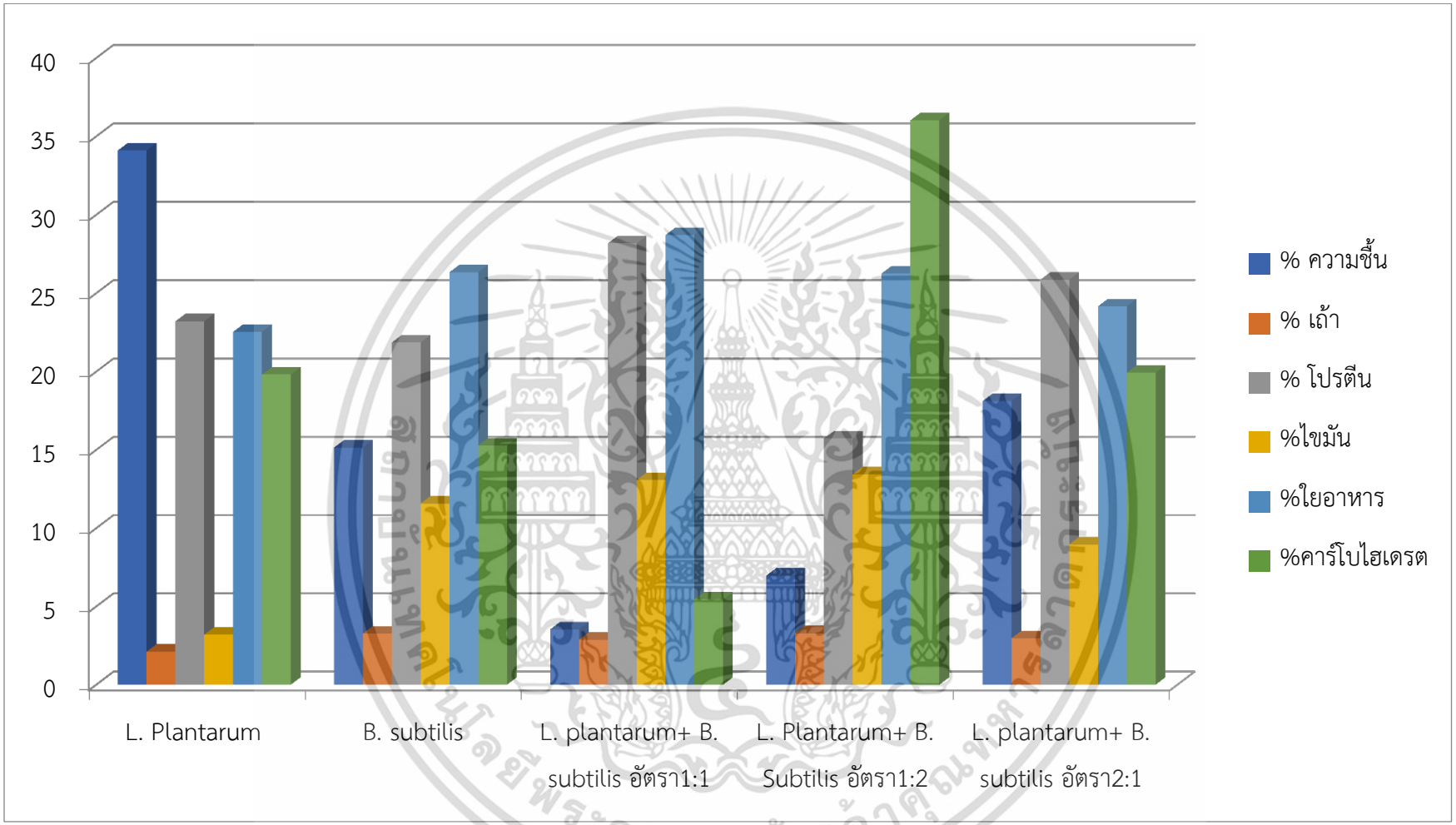
ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์สารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

ตัวอย่าง	% ความชื้น	% เถ้า	% โปรตีน	% ไขมัน	% ใยอาหาร	% คาร์โบไฮเดรต
กากถั่วเหลือง	45.8371^{a} ±3.616	1.2376±1.579	10.5125^{c} ±9.856	1.7702^{c} ±2.040	21.4169±0.493	10.9188^{j} ±0.005
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	4.6732^{f} ±1.116	2.5194±0.947	22.8275^{abc} ±2.957	3.6162^{c} ±0.657	22.3806±1.363	43.9831^{b} ±0.009
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	34.1081^{b} ±4.887	2.1146±1.814	23.2138^{ab} ±3.097	3.1970^{c} ±0.811	22.5370±1.706	19.8131^{h} ±0.004
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	2.7647^{f} ±0.820	2.6096±0.830	18.0193^{abc} ±11.249	3.9128^{c} ±0.698	26.3085±0.576	46.3851^{a} ±005
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศ	15.1454^{e} ±2.980	3.2659±0.458	21.8493^{abc} ±1.046	11.5704^{ab} ±2.764	26.3320±1.072	15.2740^{i} ±0.015
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	24.3848^{c} ±4.290	1.5203±1.680	16.3031^{abc} ±4.988	3.8705^{c} ±1.050	25.6911±1.003	32.5805^{e} ±0.001

ตัวอย่าง	% ความชื้น	% เถ้า	% โปรตีน	% ไขมัน	% ใยอาหาร	% คาร์โบไฮเดรต
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	3.5362^{f}±0.197	2.8759±0.785	28.1793^{a}±1.495	13.0777^{a}±2.781	28.7081±0.789	5.4499^{k}±0.002
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	28.0507^{c}±0.418	1.8879±1.315	17.2269^{abc}±1.642	7.9695^{b}±3.491	25.4777±0.578	27.6699^{f}±0.003
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	6.9687^{f}±1.260	3.2874±0.355	15.7281^{abc}±10.739	13.4500^{a}±3.344	26.2615±1.343	36.0259^{c}±0.002
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	22.9762^{cd}±4.331	1.3404±1.186	14.9362^{bc}±7.524	3.2526^{c}±0.818	23.9013±2.060	35.5682^{d}±0.003
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	18.1145^{de}±2.738	2.9705±1.580	25.8593^{ab}±3.381	8.9562^{b}±1.510	24.1657±1.2209	19.9338^{g}±0.002



ภาพที่ 4.4 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของสารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและในกากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ



ภาพที่ 4.5 แผนภูมิแท่งแสดงปริมาณของสารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและในกากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ

จากการวิจัยพบว่า*B. amyloliquefaciens* U304 และ *S. cerevisiae* CJ1697สามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ลดปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและปริมาณโปรตีนเพิ่มในกากถั่วเหลืองหมักอย่างไรก็ตามปริมาณโปรตีนของกากถั่วเหลืองหมัก หมักด้วย *L. acidophilus* และ *L. plantarum* ไม่ได้เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดอินทรีย์โดยทั่วไป โปรตีนที่ละลายน้ำได้ในกากถั่วเหลืองกับ *B. amyloliquefaciens* U304 เพิ่มขึ้นมากแสดงให้เห็นว่ากากถั่วเหลืองหมักกับสายพันธุ์นี้สามารถปรับปรุงคุณสมบัติที่ชอบน้ำผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส อย่างไรก็ตามกากถั่วเหลืองหมัก กับ *L. acidophilus*, *L. plantarum* และ *S. cerevisiae* CJ1697ได้เพิ่มปริมาณโปรตีนที่ละลายน้ำได้ และการลดลงของความสามารถในการละลายไนโตรเจน เกิดจากความเสียหายจากความร้อนในระหว่างการให้ความร้อนความสามารถในการละลายไนโตรเจนของกากถั่วเหลืองหมักด้วย *Lactobacillus* spp. ต่ำกว่ามากกว่า *S. cerevisiae* ซึ่งอาจเกิดจากค่า pH ที่ต่ำกว่าที่สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างโปรตีนและนำไปสู่การตกตะกอนโปรตีน

จะเห็นได้ว่า การหมักกากถั่วเหลืองในสภาวะมีอากาศ เชื้อ *B. subtilis* มีการเจริญเติบโตโดยใช้แหล่งไนโตรเจนจากกากถั่วเหลืองในการเจริญเติบโตทำให้มีปริมาณโปรตีนลดลง และสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลืองได้ จึงทำให้ผลคาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลือง และการหมักกากถั่วเหลืองของเชื้อ *L. plantarum*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากผลการทดลองหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. plantalum* TISTR 862, *B. subtilis* TISTR 001 และ *L. plantalum* TISTR 862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISTR 001 ในอัตราส่วนต่าง ๆ หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ พบว่าตัวอย่างกากถั่วเหลืองหมักที่ได้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง และในบางตัวอย่างมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นจากตัวอย่างกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก โดยกากถั่วที่เหลืองที่หมักด้วย *L. plantalum* TISTR 862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISTR 001 ในอัตราส่วน 1:2 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด และในการศึกษาสารประกอบหลักในกากถั่วเหลืองและในกากถั่วเหลืองหมัก พบว่าสารประกอบในกากถั่วเหลืองหมักนั้นมีปริมาณโปรตีน, ไขมัน, ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรตที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นกากถั่วเหลืองหมักที่หมักโดยเชื้อ *L. plantalum* TISTR 862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISTR 001 ในอัตราส่วน 1:1 ในสภาวะมีอากาศมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ลดลงเมื่อเทียบกับปริมาณคาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลือง เนื่องจากกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักด้วยจุลินทรีย์ดังกล่าว จุลินทรีย์ได้มีการใช้คาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความสำคัญในการให้พลังงานแก่องค์ประกอบเซลล์ โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักจะนำคาร์โบไฮเดรตที่มีอยู่มาใช้งาน โดยจะทำการย่อยองค์ประกอบของกากถั่วเหลืองให้มีขนาดน้ำตาลโมเลกุลที่เล็กลงหรือที่อยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์หรือน้ำตาลอิสระ เพื่อง่ายต่อการนำไปใช้เป็นแหล่งพลังงานภายในเซลล์ และในการศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักกากถั่วเหลือง พบว่าการใช้ *B. subtilis* TISTR 001, *L. plantalum* TISTR 862 และ *L. plantalum* TISTR 862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISTR 001 ในอัตราส่วนต่าง ๆ หมักแบบมีอากาศและแบบไม่มีอากาศ ในการหมักกากถั่วเหลืองสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ เนื่องจาก *B. subtilis* TISTR 001 ต้องการออกซิเจนปริมาณมากในการเจริญเติบโต เป็นผลทำให้ในระหว่างการหมักออกซิเจนลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งในส่วนนี้จะส่งผลดีต่อ *L. plantalum* TISTR862 เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ ทำให้ *L. plantalum* TISTR 862 สามารถผลิตกรดแลคติกที่สามารถช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์อื่นๆที่ไม่ทนกรดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ในการจัดเก็บกากถั่วเหลืองที่จะนำมาใช้ในการศึกษา ควรมีการจัดเก็บในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำ หรืออุณหภูมิที่ติดลบ เพื่อป้องกันการเน่าเสียของกากถั่วเหลือง และป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

5.2.2 การนำเชื้อเริ่มต้นที่ได้มาใช้ในการหมัก ควรมีการคิดคำนวณปริมาณเชื้อที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักก่อน เชื้อที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการหมักนั้นคือเชื้อที่อยู่ในช่วง Log phase เนื่องจากเป็นช่วงที่จุลินทรีย์เริ่มมีการแบ่งตัวเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ

5.2.3 ในระหว่างการหมักกากถั่วเหลือง ควรจัดเตรียมตู้ที่ไว้สำหรับบ่มกากถั่วเหลืองอย่างเดียว ไม่ควรในตู้บ่มร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น เพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการในกากถั่วเหลืองหมัก

5.2.4 การจัดเก็บกากถั่วเหลืองสกัดที่นำไปทำให้เข้มข้นแล้วนั้น ควรจัดเก็บในขวด หรือในภาชนะที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำ ไม่ควรจัดเก็บในภาชนะที่เป็นถุง เพื่อป้องกันความเสียหายที่อาจเกิดต่อตัวอย่างที่เก็บไว้ อันมีผลมาจากภาชนะบรรจุเกิดความเสียหาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

จินดาพร คงเดช. การผลิตสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชเพื่อใช้ในการผลิตเครื่องสำอาง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.chiangmainews.co.th/viewnews.php?id=19030&lyo=1. 16 พ.ค. 2563

จุฑาทิพย์ พุ่มเจริญ ปาริชาติ ศรีสวัสดิ์ และ สุนัดดา ดวงครุฑ. 2559. การวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรตจากกากถั่วเหลืองหมักโดย บาซิลัส ซับทีลิส และ แอสเปอร์จิลลั้ส โอรีซี. วิทยานิพนธ์ปริญญาตรี. สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2546. เอกสารประกอบการสอนเคมีวิเคราะห์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. *Bacillus subtilis*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com /wiki/word/6203/bacillus-subtilis/. 21 พ.ค. 2563.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. *Escherichia coli*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.org/wiki/word/2/*Escherichia coli*/. 5 พ.ค. 2563

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. Proximate analysis. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://portal5.udru.ac.th/ebook/. 5 มิ.ย. 2563.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ คณะ. 2553. จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมัก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0316/fermentation-81. 6 มิ.ย. 2563.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ คณะ. 2553. carbohydrate/คาร์โบไฮเดรต [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1097/carbohydrate . 6 มิ.ย. 2563.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ คณะ. 2553. ลักษณะการเจริญของแบคทีเรีย [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1543/generation-time . 6 มิ.ย. 2563.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2539. เคมีอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร . คณะอุตสาหกรรเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2554. หลักการวิเคราะห์อาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 256 หน้า.

นินนาท์ จันทร์สูรย์. 2546. เคมีวิเคราะห์พื้นฐาน. ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 425 หน้า.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนติยะ ยอดเณร. 2555. กากนมถั่วเหลือง (soy-milk residue). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http//www.thailivestock.com/cattle_handing/กากนมถั่วเหลือง-soy-milk-residue. 21 มิ.ย. 2563.

วิกิพีเดียว สารานุกรมเสรี 2558. การหมัก (fermentation). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://th.wikipedia.org/wiki/การหมัก_(ชีวเคมี). 21 มิ.ย. 2563.

ศิริรัตน์ เฉลยสรรพ, สุพรรษา ก้งเซ่ง และ มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. 2554. ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแบคทีเรียแลคติกที่แยกจากอาหารและแนวทางในการปรับปรุงสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* เพื่อใช้เป็นโพรไบโอติก. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 ฉบับพิเศษ.

สารานุกรมไทย. 2556. อาหารสัตว์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://guru.sanook.com/134/. 20 มิ.ย. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. 1 Luria-Bertani Broth (LB Broth)

1. Tryptone	10.0	กรัม
2. Yeast extract	5.0	กรัม
3. NaCl	5.0	กรัม
4. Distilled water	1000	มิลลิลิตร

เตรียมส่วนผสมทั้งหมดลงในน้ำกลั่นปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ผสมให้สารอาหารละลายจนหมด จากนั้นนำไปปรับค่า pH ให้ได้ 7.0 แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

สำหรับอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น (Agar) 15 กรัม ผสมกับส่วนผสมทั้งหมด ละลายสารอาหารโดยมีความร้อนเข้ามาช่วยให้ผงวุ้นละลายเร็วขึ้น จากนั้นนำไปวัดค่า pH ให้ได้ 7.0 แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ก. 2 Eosin Methylene Blue Agar (EMB Agar)

1. Peptone	10.0	กรัม
2. Lactose	10.0	กรัม
3. Dipotassium monohydrogen phosphate	2.0	กรัม
4. Methylene blue	0.065	กรัม
5. Eosine Y	0.4	กรัม
6. Agar	15.0	กรัม
7. Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ตักอาหาร 37.5 กรัมละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปให้ความร้อนจนเดือดและละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำไปทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. 3 de Man, Rogosa and Sharpe (MRS Broth)

1. Dextrose	20.0	กรัม
2. Meat peptone	10.0	กรัม
3. Beef extract	10.0	กรัม
4. Yeast extract	5.0	กรัม
5. Sodium acetate	5.0	กรัม
6. K2HPO4	2.0	กรัม
7. Ammonium citrate	2.0	กรัม
8. Tween 80	1.0	กรัม
9. Magnesium sulfate	0.1	กรัม
10. Manganese sulfate	0.05	กรัม
11. Distilled water	1000	มิลลิลิตร

ผสมส่วนผสมข้างต้นด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปรับค่า pH ให้ได้ 6.5 แล้วจึงนำไปทำการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

สำหรับอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น (Agar) 15 กรัม ผสมกับส่วนผสมทั้งหมด ละลายสารอาหารโดยมีความร้อนเข้ามาช่วยให้ผงวุ้นละลายเร็วขึ้น จากนั้นนำไปวัดค่า pH ให้ได้ 6.5 แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

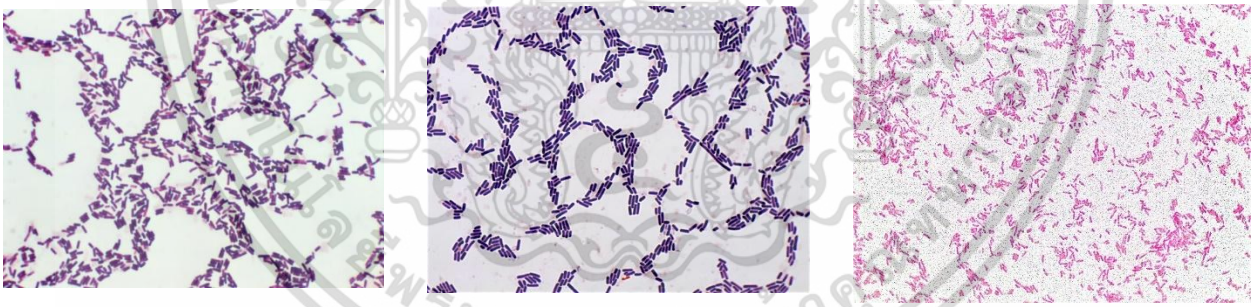
วัตถุดิบและเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

ข. 1 วัตถุดิบ

1.1 กากถั่วเหลืองจากบริษัท แลตตาซอย จำกัด

ภาพที่ ข.1 กากถั่วเหลืองจากบริษัท แลตตาซอย จำกัด

1.2 เชื้อจุลลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001, *L. plantarum* TISTR862 และ *E. coli* TISTR 073



ภาพที่ ข.2 ภาพเชื้อจุลินทรีย์ *B. subtilis* TISR001, *L. plantarum* TISTR862 และ *E. coli* TISTR 073 จากกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 เครื่องมือที่ใช้ในกาทดลอง

ภาพที่ ข.3 เครื่องชั่งสารแบบละเอียด

ภาพที่ ข.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง

ภาพที่ ข.5 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

ภาพที่ ข.6 ตู้อบลมร้อน (Heating and Drying)

ภาพที่ ข.7 เครื่องผสมสารสารละลาย (Vortex mixer)

ภาพที่ ข.8 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ข.9 ตู้ดูดควันสารเคมี (fume hood)

ภาพที่ ข.10 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

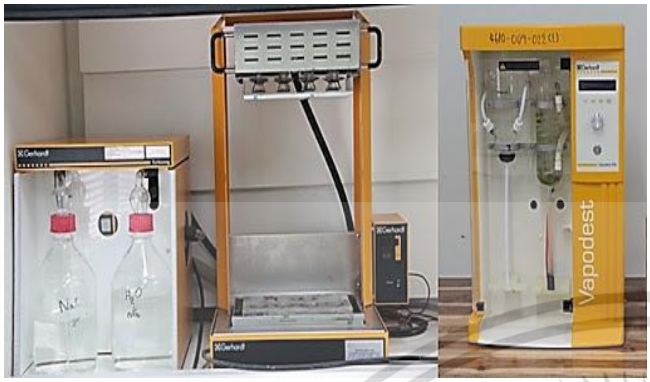
ภาพที่ ข.11 ตู้อบ (hot air oven)

ภาพที่ ข.12 เครื่อง laminar air flow

ภาพที่ ข.13 เครื่องตีบดละเอียด (Stomacher)

ภาพที่ ข.14 ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า(Shaking Incubator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข.15 ชุดกลั่นและย่อยไนโตรเจน (เครื่องย่อยไนโตรเจน) (Kjeldahl)

ภาพที่ ข.16 เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (Soxhlet)

ภาพที่ ข.17 เครื่องวิเคราะห์กากใยอาหาร (Total Dietary Fiber Analyzer ANKOM TDF)

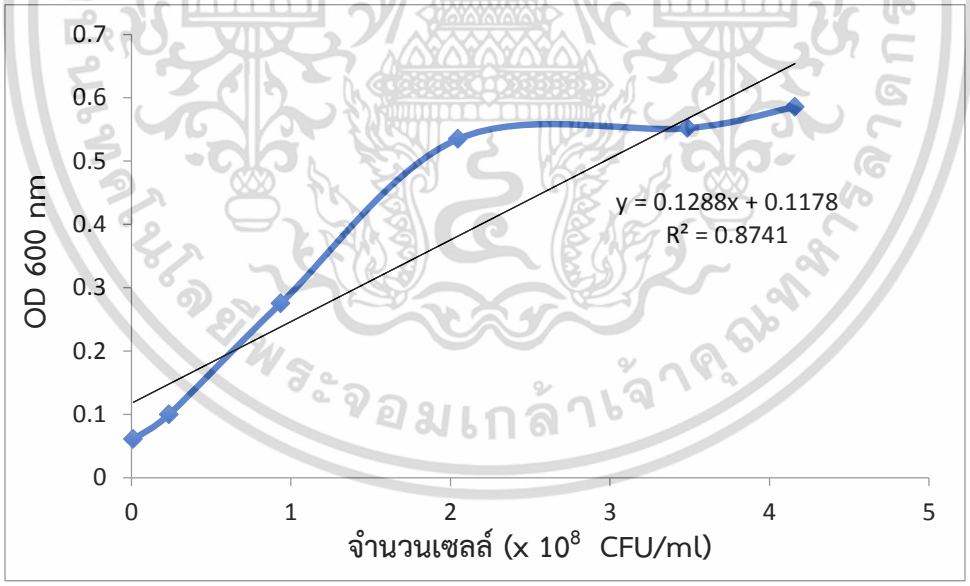
ภาพที่ ข.18 เครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (evaporator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

ตารางที่ ค.1 ข้อมูลอัตราการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* TISR001

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (x10^8 CFU/ml)	Log (x10^8 CFU/ml)	ค่าเฉลี่ย OD	S.D.
0	0.012	6.079	0.0608	0.0278
2	0.235	6.544	0.0997	0.1008
4	0.935	7.728	0.2751	0.1474
6	2.048	8.311	0.5349	0.0198
8	3.485	8.542	0.5518	0.0208
10	4.159	8.510	0.5852	0.0071

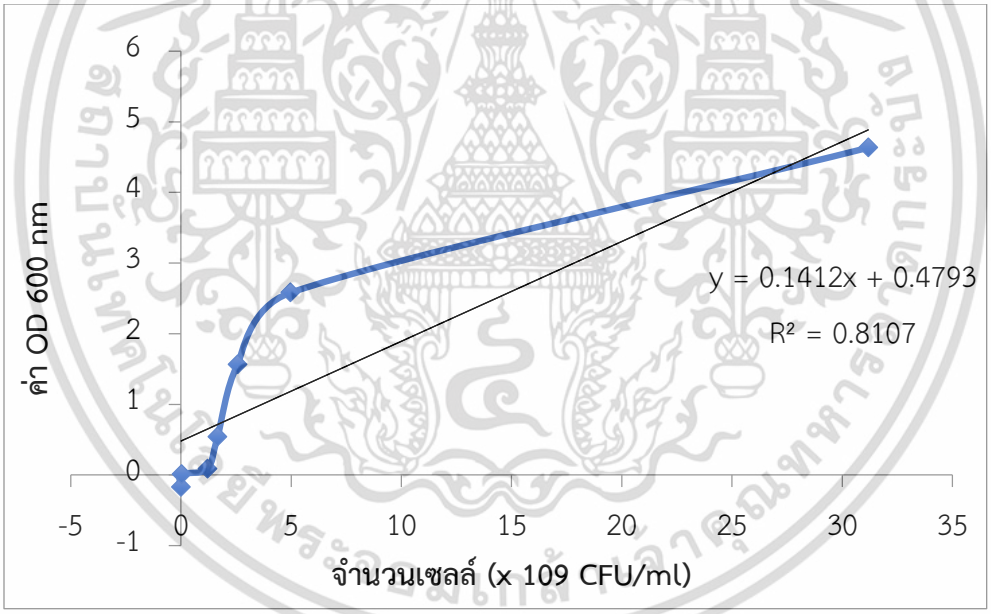


ภาพที่ ค.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ *B. subtilis* TISTR 001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 ข้อมูลอัตราการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ (x 10^9 CFU/ml)	Log (x 10^9 CFU/ml)	ค่าเฉลี่ย OD	S.D.
0	0.009	6.954	-0.1745	0.0039
2	0.028	7.447	0.008	0.0030
4	1.205	9.081	0.086	0.0009
6	1.659	9.220	0.538	0.0025
8	2.571	9.410	1.563	0.0018
10	4.968	9.599	2.580	0.0011
24	31.186	10.494	4.633	0.0022



ภาพที่ ค.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ของเชื้อ *L.plantarum* TISTR 862

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.3 การเจริญเติบโตของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 หลังจากการหมักกากถั่วเหลือง

ตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ (Colony)				จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	278 258	144 140	150 145	169 160	4.5×10^{9}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	2 1	3 1	4 5	1 0	$<1\times10^{1}$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1 2	4 2	0 1	1 0	$<1\times10^{1}$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศ	>300 >300	>300 >300	80 70	47 40	2.6×10^{9}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	6 4	2 1	10 8	0 0	$<1\times10^{1}$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	>300 >300	39 42	25 20	12 10	1.3×10^{8}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	>300 >300	39 66	32 29	85 97	3.1×10^{8}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	>300 >300	>300 >300	>300 >300	5 4	$<30\times10^{1}$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ (Colony)				จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	21	20	1	1	$<1\times10^{1}$
	23	18	2	1	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	>300	>300	>300	35	3.6×10^{9}
	>300	>300	>300	36	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.4 การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 หลังจากการหมักกากถั่วเหลือง

ตัวอย่าง	จำนวนจุลินทรีย์ (Colony)				จำนวนจุลินทรีย์ (CFU/ml)
	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	>300 >300	67 57	129 132	29 38	1.6×10^{9}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	0 0	0 0	0 0	0 0	0
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	>300 >300	>300 >300	236 250	109 109	6.7×10^{9}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	0 0	0 0	0 0	0 0	0
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	3 2	2 2	2 1	5 3	$<1\times10^{1}$
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	0 0	0 0	0 0	0 0	0
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	>300 >300	>300 >300	276 200	2 16	2.4×10^{8}
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	0 0	0 0	0 0	0 0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.5 น้ำหนักของกากถั่วเหลืองก่อนหมักและน้ำหนักของกากถั่วเหลืองหลังผ่านการอบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 ชั่วโมง

ตัวอย่าง	น้ำหนักก่อนหมักกากถั่วเหลือง (กรัม)	น้ำหนักผ่านการอบลมร้อน (กรัม)
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	550
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	1000	343
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	540
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศ	1000	332
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	580
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	1000	420
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	540
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	1000	430
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	590
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ L. plantarum TISTR862 ร่วมกับ B. subtilis TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	1000	410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.6 ค่าการดูดกลืนแสงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริกที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร และวิธีกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิกที่ความยามคลื่น 540 นาโนเมตร

ตัวอย่าง	วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก ระดับเจือจางที่ 1:100		ค่าเฉลี่ย	วิธีกรด3,5-ไดไนโตรซาลิก ระดับเจือจางที่ 1:10		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
กากถั่วเหลือง	1.5176	1.5108	1.5142	0.1406	0.1424	0.1415
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.1561	1.3862	1.2712	0.0793	0.0992	0.0893
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	1.5914	1.7046	1.6480	0.6980	0.8016	0.7498
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.1993	1.2380	1.2187	0.0875	0.0984	0.0930
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001ในสภาวะมีอากาศ	0.5940	0.8119	0.7030	0.2535	0.3298	0.2917
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	0.7592	0.6430	0.7011	0.1938	0.1773	0.1856
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	0.7649	0.8900	0.8275	0.1097	0.1128	0.1113
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	0.2029	0.3772	0.2901	0.1161	0.1366	0.1264
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ L. plantarum TISTR862 ร่วมกับ B. subtilis TISR001ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	0.7075	0.8068	0.7572	0.1311	0.2422	0.1366

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

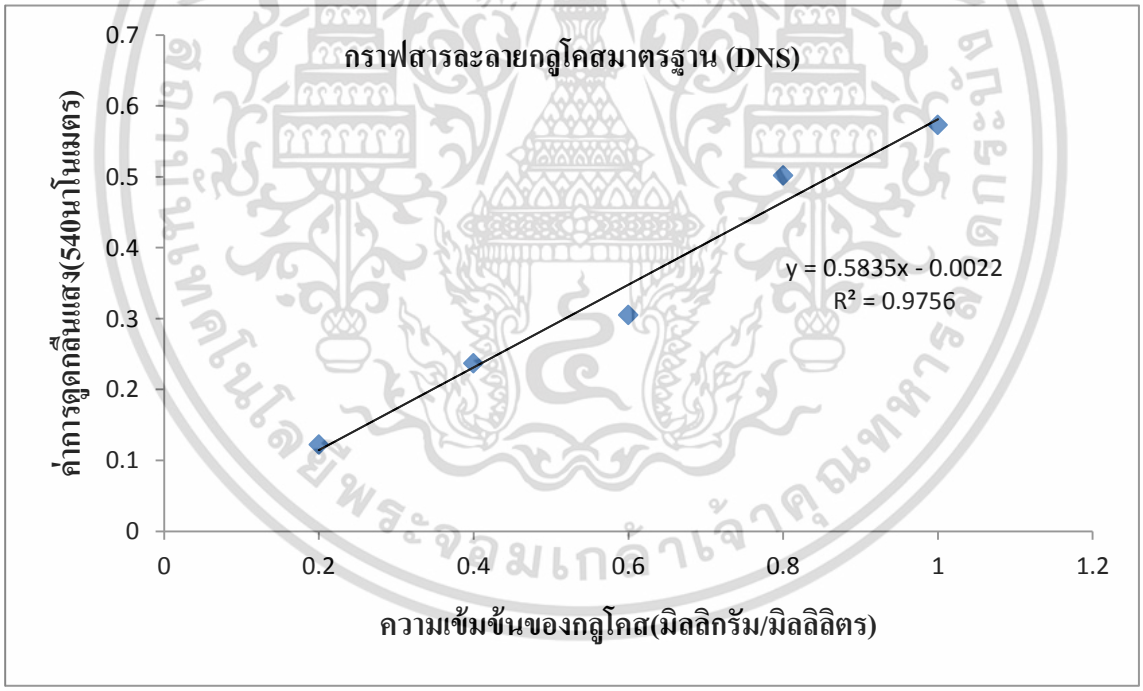
ตัวอย่าง	วิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก ระดับเจือจางที่ 1:100		ค่าเฉลี่ย	วิธีกรด3,5-ไดไนโตรซาลิก ระดับเจือจางที่ 1:10		ค่าเฉลี่ย
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2		ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	0.4145	0.3990	0.4067	0.0669	0.0690	0.0679
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	0.8877	1.0944	0.9910	0.2835	0.4222	0.3529

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.7 แสดงกลูโคสมาตรฐานโดยวิธี DNS

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานโดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สารละลายกลูโคส (มิตรลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (540 นาโนเมตร)			
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0.2	0.8	0.2	0.1317	0.118	0.1172	0.1223
0.4	0.6	0.4	0.2314	0.2389	0.24	0.2368
0.6	0.4	0.6	0.2914	0.3079	0.3158	0.3050
0.8	0.2	0.8	0.4878	0.5112	0.5072	0.5021
1	0	1.0	0.5706	0.5737	0.5751	0.5731



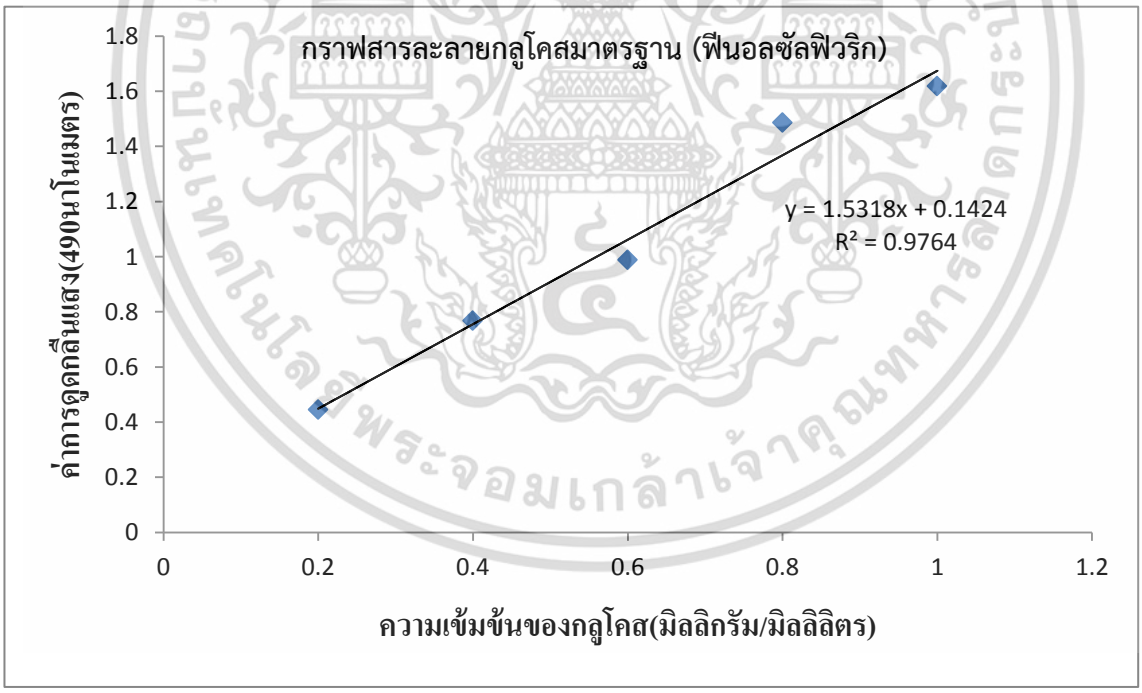
ภาพที่ ค.3 กราฟแสดงสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้นของกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.8 แสดงกลูโคสมาตรฐานโดยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก

(เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานโดยชั่งกลูโคส 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)

สารละลายกลูโคส (มิตรลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (490 นาโนเมตร)			
			ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ค่าเฉลี่ย
0.2	0.8	0.02	0.4428	0.4457	0.45	0.4462
0.4	0.6	0.04	0.754	0.7696	0.7798	0.7678
0.6	0.4	0.06	0.9702	0.9956	0.9997	0.9885
0.8	0.2	0.08	1.4822	1.4819	1.4953	1.4865
1	0	0.1	1.6126	1.6195	1.6239	1.6187



ภาพที่ ค.4 กราฟแสดงสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้นของกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค. 9 ปริมาณน้ำตาลที่สกัดแล้วถูกทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary Evaporator)
(สกัดกากถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในอัตรา กากถั่วเหลืองต่อน้ำกลั่น 1ต่อ 2)

ตัวอย่าง	ปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณกากถั่วเหลืองที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง (มิลลิลิตร)	ปริมาณกากถั่วเหลืองที่ผ่านการทำให้เข้มข้น (มิลลิลิตร)
กากถั่วเหลือง	1500	1200	200
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	900	200
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	670	550	100
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001ในสภาวะไม่มีอากาศ	1300	650	100
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001ในสภาวะมีอากาศ	610	550	100
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1000	980	200

ตัวอย่าง	ปริมาณกากถั่วเหลืองที่สกัดได้ (มิลลิลิตร)	ปริมาณกากถั่วเหลือง ที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง(มิลลิลิตร)	ปริมาณกากถั่วเหลืองที่ผ่านการ ทำให้เข้มข้น (มิลลิลิตร)
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	740	650	100
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1280	1100	200
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	550	450	100
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1800	1120	200
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	680	600	100

ตารางที่ ค.10 ส่วนประกอบหลักของกากถั่วเหลืองด้วยการวิเคราะห์ประมาณ Proximate analysis โดยวิเคราะห์หาความชื้น

ตัวอย่าง	น้ำหนัก can+ฝา(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ(กรัม)	น้ำหนัก can+ฝากับน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก can+ฝากับน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% ความชื้น	% ความชื้นเฉลี่ย	S.D.
กากถั่วเหลือง	16.7293	5.0698	21.7991	19.6859	41.6821	45.8371	3.6159
	17.6842	3.1084	20.7926	19.3143	47.5582		
	15.4424	3.1056	18.5480	17.0489	48.2709		
กากถั่วเหลืองหมักด้วย	16.0002	5.0609	21.0611	20.8113	4.9359	4.6732	1.1319
เชื้อ *L. Plantarum*	17.2675	3.0793	20.3468	20.1728	5.6506		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	17.7154	3.0264	20.7418	20.6379	3.4331		
กากถั่วเหลืองหมักด้วย	17.7878	5.1991	22.9869	2098211	39.7338	34.1081	4.8869
เชื้อ *L. plantarum*	17.5357	3.0154	20.5511	19.5959	31.6774		
ในสภาวะมีอากาศ	17.2758	3.1404	20.4162	19.4454	30.9133		
กากถั่วเหลืองหมักด้วย	17.5183	5.0667	22.5850	22.4739	2.1927	2.7646	0.8195
เชื้อ *B. subtilis*	17.4305	3.1030	20.5335	20.4591	2.3977		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	16.6883	3.0161	19.7044	19.5927	3.7035		
กากถั่วเหลืองหมักด้วย	17.1175	5.0790	22.1965	21.5927	11.8882	15.1454	2.9757
เชื้อ *B. subtilis*	17.2684	3.0632	20.3316	19.8468	15.8266		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	15.8847	3.0099	18.8946	18.3612	17.7215		

ตัวอย่าง	น้ำหนัก can+ฝา (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก can+ฝา กับน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม	น้ำหนัก can+ฝา กับน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% ความชื้น	% ความชื้นเฉลี่ย	S.D.
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	17.6521	5.0281	22.6802	21.5992	21.4992	24.3848	4.2903
	17.8014	3.0551	20.8565	19.9609	29.3149		
	17.0304	3.0398	20.0702	19.3911	22.3402		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	15.3349	5.1668	20.5017	20.3088	3.7335	3.5362	0.1973
	15.4321	3.1568	18.5889	18.4835	3.3388		
	15.6927	3.0201	18.7128	18.6060	3.5363		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	17.7831	5.1695	22.9526	21.5266	27.5849	28.0507	0.4183
	17.6541	3.1274	20.7815	19.8935	28.3942		
	15.4824	3.0444	18.5268	17.6691	28.1730		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis*อัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	16.0074	5.0700	21.0774	20.7596	6.2682	6.9687	1.2595
	15.4321	3.1069	18.5011	18.3459	6.2152		
	15.6927	3.0928	18.7855	18.5250	8.4228		

ตัวอย่าง	น้ำหนัก can+ฝา (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก can+ฝา กับน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนัก can+ฝา กับน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% ความชื้น	% ความชื้นเฉลี่ย	S.D.
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	15.5215	5.0636	20.5851	19.5577	20.2899	22.9762	4.3305
	17.6163	3.0953	20.7116	20.0719	20.6668		
	15.4020	3.0645	18.4665	17.6093	27.9719		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ร่วมกับ *B. subtilis* อัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	15.4291	5.1879	20.6170	19.8246	15.2740	18.1145	2.7314
	17.6291	3.0478	20.6769	20.1177	18.3477		
	17.9297	3.0948	21.0245	20.3832	20.7219		

ตารางที่ ค.11 ส่วนประกอบหลักของกากถั่วเหลืองด้วยการวิเคราะห์ประมาณ Proximate analysis โดยวิเคราะห์เถ้า

ตัวอย่าง	ถ้วยกระเบื้องเปล่า (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา(กรัม)	% เถ้า	% เถ้าเฉลี่ย
กากถั่วเหลือง	32.0991	1.1860	33.2851	32.1350	3.0269	1.2376
	25.3723	1.0801	26.4524	25.3793	0.6480	
	25.1238	1.0523	26.1765	25.1242	0.0379	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ	25.1263	2.1361	27.2624	25.2033	3.6047	2.5194
	30.3832	1.0895	31.4727	30.4038	1.8607	
	27.8503	1.0512	28.9015	27.8723	2.0928	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศ	25.4577	2.1413	27.5990	25.5147	2.6619	2.1146
	32.0969	1.0105	33.1074	32.1332	3.5922	
	37.1741	1.0000	38.1741	37.1750	0.0899	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ	37.1774	2.0129	39.1887	37.2487	3.5449	2.6096
	35.0488	1.0660	36.1148	35.0697	1.9606	
	25.4530	1.0373	26.4903	25.4771	2.3233	

ตัวอย่าง	ถ้วยกระเบื้องเปล่า (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% เถ้า	% เถ้าเฉลี่ย
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	30.3847	2.0096	32.3943	30.4609	3.7918	
B. subtilis TISR001	35.0647	1.0706	36.1353	35.0974	3.0544	3.2659
ในสภาวะมีอากาศ	30.0987	1.0341	31.1320	30.1292	2.9517	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	33.5441	2.0219	35.5660	33.6136	3.4374	
L. plantarum TISTR862	23.2964	1.1529	24.4493	23.3058	0.8153	1.5203
ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001	33.5414	1.0704	34.6118	33.5447	0.3082	
ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ						
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	25.3809	2.0764	27.4573	25.4256	2.1527	
L. plantarum TISTR862	29.4059	1.0458	30.4517	29.4348	2.7634	2.8759
ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001	22.3148	1.0427	23.3575	22.3535	3.7115	
ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ						
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	35.0511	2.0603	37.1114	35.1208	3.3830	
L. plantarum TISTR862	25.3416	1.0427	26.3843	25.3559	1.3714	1.8879
ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001	36.4681	1.0115	37.4796	36.4773	0.9095	
ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ						

ตัวอย่าง	ถ้วยกระเบื้องเปล่า (กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)	ถ้วยกระเบื้อง+น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% เถ้า	% เถ้าเฉลี่ย
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	27.8526	2.0643	29.9169	27.9258	3.5459	3.2874
	23.5629	1.0251	24.5880	23.5981	3.4338	
	29.8159	1.0442	30.8601	29.8460	2.8825	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	23.2995	2.0521	25.3638	23.2996	0.0048	1.3404
	23.2722	1.0390	24.3112	23.2958	2.2714	
	36.3126	1.0372	37.3498	36.3307	1.7450	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ *B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	29.4068	2.0629	31.4697	29.4306	1.1537	2.9705
	25.1469	1.0405	26.1874	25.1888	4.0269	
	30.0447	1.0185	31.0632	30.0827	3.7309	

ตารางที่ ค.12 ส่วนประกอบหลักของกากถั่วเหลืองด้วยการวิเคราะห์ประมาณ Proximate analysis โดยวิเคราะห์หาโปรตีน

ตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณ HCL ที่ใช้ในการไตเตรท(มิลลิลิตร)	% ไนโตรเจน	% ไนโตรเจนเฉลี่ย	% โปรตีน
กากถั่วเหลือง	1.0311	25.8	3.5030	1.6820	10.5125
	1.0748	5.9	0.7685		
	1.0301	5.7	0.7746		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	1.0085	22.4	3.1096	3.6524	22.8275
L. plantarum TISTR862	1.1140	30.8	3.8707		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0631	30.2	3.9770		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	1.0045	23.1	3.2195	3.7142	23.2138
L. plantarum TISTR862	1.0274	30.9	4.2106		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0181	27.0	3.7127		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	1.0079	27.0	3.7503	2.8831	18.0193
B. subtilis TISR001	1.1009	6.4	0.8138		
ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0178	29.7	4.0852		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	1.0112	24.2	3.3504	3.4959	21.8493
B. subtilis TISR001	1.0727	26.5	3.4585		
ในสภาวะมีอากาศ	1.0275	27.0	3.6788		

ตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณ HCL ที่ใช้ในการไตเตรท(มิลลิลิตร)	% ไนโตรเจน	% ไนโตรเจนเฉลี่ย	% โปรตีน
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0153	25.6	3.5299	2.6085	16.3031
	1.1282	17.2	2.1343		
	1.1335	17.5	2.1614		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	1.0079	33.6	4.6671	4.5087	28.1793
	1.0593	35.0	4.6255		
	1.0582	32.0	4.2336		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0100	17.7	2.4534	2.7563	17.2269
	1.0594	21.9	2.8940		
	1.0494	21.9	2.9216		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	1.0069	23.3	3.2396	2.5165	15.7281
	1.0998	29.5	3.7552		
	1.0596	4.2	0.5549		

ตัวอย่าง	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	ปริมาณ HCL ที่ใช้ ในการไตเตรท(มิลลิลิตร)	% ไนโตรเจน	% ไนโตรเจนเฉลี่ย	% โปรตีน
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	1.0061	21.9	3.0474	2.3898	14.9362
	1.0629	23.7	3.1216		
	1.1054	7.9	1.0005		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	1.0071	33.9	4.7125	4.1375	25.8593
	1.0619	27.6	3.6388		
	1.0583	30.7	4.0612		

ตารางที่ ค.13 ส่วนประกอบหลักของกากถั่วเหลืองด้วยการวิเคราะห์ประมาณ Proximate analysis โดยวิเคราะห์ไขมัน

ตัวอย่าง	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันเปล่า(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันกับตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% ไขมัน	% ค่าเฉลี่ยไขมัน
กากถั่วเหลือง	139.4656	4.0424	139.6324	4.1263	1.7702
	144.7421	3.1084	144.7609	0.6048	
	143.2936	3.1056	143.3116	0.5796	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	145.6732	3.9357	145.8358	4.1314	3.6162
L. plantarum TISTR862	140.5608	3.0793	140.6482	2.8383	
ในสภาวะไม่มีอากาศ	141.4240	3.0264	141.5414	3.8791	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	145.6762	3.9358	145.8384	4.1211	3.1970
L. plantarum TISTR862	136.6410	3.0154	136.7274	2.8653	
ในสภาวะไม่มีอากาศ	141.2835	3.1404	141.3653	2.6047	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	140.3808	3.9358	140.5675	4.7170	3.9128
B. subtilis TISR001	145.6844	3.1030	145.7924	3.4805	
ในสภาวะไม่มีอากาศ	139.4832	3.0161	139.5900	3.5409	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	139.2368	2.1172	139.4142	8.3789	11.5704
B. subtilis TISR001ในสภาวะ	146.2577	3.0632	146.6613	13.1757	
มีอากาศ	140.3879	3.0099	140.7839	13.1566	

ตัวอย่าง	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันเปล่า(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันกับตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	% ไขมัน	% ค่าเฉลี่ยไขมัน
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	136.6226	4.0618	136.7695	3.6166	3.8705
	147.0911	3.0551	147.2446	5.0243	
	141.5382	3.0398	141.6285	2.9706	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	141.4132	1.2417	141.6152	16.2680	13.0777
	139.2525	3.1568	139.6250	11.7999	
	144.6428	3.0201	144.9800	11.1652	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	147.0832	4.1555	147.2651	4.3773	7.9695
	142.4779	3.1274	142.7338	8.1825	
	139.9336	3.0444	140.2791	11.3487	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	140.5294	3.4264	140.8584	9.6019	13.4500
	144.5862	3.0953	145.0701	15.6528	
	141.6876	3.0645	142.1502	15.0954	

ตัวอย่าง	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันเปล่า(กรัม)	น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)	น้ำหนักบีกเกอร์ไขมันกับตัวอย่างหลังอบ(กรัม)	%ไขมัน	%ไขมันเฉลี่ย
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะไม่มีอากาศ	144.5757	4.0473	144.7453	4.1904	3.2526
	142.7882	3.1069	142.8778	2.8839	
	140.5781	3.0928	140.6611	2.6836	
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	141.6914	3.5059	142.0074	9.0133	8.9562
	142.4464	3.0478	142.6725	7.4185	
	139.4262	3.0948	139.7492	10.4369	

ตารางที่ ค.14 ส่วนประกอบหลักของกากถั่วเหลืองด้วยการวิเคราะห์ประมาณ Proximate analysis โดยวิเคราะห์ใยอาหาร

ตัวอย่าง	น้ำหนัก crucible แก้ว (ก่อนอบ)	น้ำหนักตัวอย่าง (ก่อนอบ)	น้ำหนัก crucible แก้ว + น้ำหนักตัวอย่าง			% ใยอาหาร	% ใยอาหารเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
			ก่อนอบ	หลังอบ	หลังเผา			
กากถั่วเหลือง	29.9794	1.0561	31.0355	30.6473	30.4248	21.0681	21.4169	0.4933
	29.3436	1.0149	30.3585	29.9116	29.6907	21.7657		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	29.9924	1.0471	31.0395	30.6457	30.4089	22.6148		
L. plantarum TISTR862	30.1552	1.0142	31.1694	30.7334	30.4938	23.6245	22.3806	1.3760
ในสภาวะไม่มีอากาศ	30.0188	1.0171	31.0359	30.6116	30.3990	20.9026		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	29.8588	1.0386	30.8974	30.5152	30.2730	23.3199		
L. plantarum TISTR862	29.8199	1.0472	30.8671	30.5315	30.2832	23.7108	22.5370	1.7057
ในสภาวะมีอากาศ	28.9762	1.0131	29.9893	29.5596	29.3511	20.5804		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	30.3613	1.1173	31.4786	30.8413	30.5429	26.7072		
B. subtilis TISR001	29.4272	1.0203	30.4475	30.1396	29.8685	26.5706	26.3085	0.5764
ในสภาวะไม่มีอากาศ	29.9937	1.0231	31.0168	30.6975	30.4351	25.6475		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ	30.2149	1.0047	30.8974	30.6327	30.3648	26.6647		
B. subtilis TISR001	30.1540	1.0349	31.1889	30.7027	30.4426	25.1329	26.3320	1.0722
ในสภาวะมีอากาศ	29.7734	1.0758	30.8492	30.5729	30.2803	27.1984		

ตัวอย่าง	น้ำหนัก crucible แก้ว (ก่อนอบ)	น้ำหนักตัวอย่าง (ก่อนอบ)	น้ำหนัก crucible แก้ว + น้ำหนักตัวอย่าง			% ใยอาหาร	% ใยอาหารเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
			ก่อนอบ	หลังอบ	หลังเผา			
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา1: 1ในสภาวะไม่มีอากาศ	29.2896	1.0283	30.3179	29.9415	29.6876	24.6912	25.6911	1.0034
	28.9189	0.5742	29.4931	29.3052	29.1519	26.6980		
	29.2296	0.5665	29.7961	29.7094	29.5639	25.6840		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 1 ในสภาวะมีอากาศ	29.8320	1.0283	30.8603	30.4928	30.1883	29.6120	28.7081	0.7894
	29.4129	1.0041	30.4170	30.0599	29.7772	28.1546		
	28.8498	1.0558	29.9056	29.5806	29.2812	28.3576		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา1: 2 ในสภาวะไม่มีอากาศ	30.0018	1.0287	31.0305	30.6196	30.3588	25.3524	25.4777	0.5781
	30.9593	1.0062	31.9655	31.6326	31.3699	26.1081		
	30.2224	1.0003	31.2227	30.8445	30.5947	24.9725		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 1: 2 ในสภาวะมีอากาศ	29.7837	1.0006	30.7843	30.4513	30.1956	25.5547	26.2615	1.3431
	29.6835	1.0194	30.7029	30.2419	29.9584	27.8105		
	29.6995	1.0012	30.7007	30.3443	30.0898	25.4195		

ตัวอย่าง	น้ำหนัก crucible แก้ว (ก่อนอบ)	น้ำหนักตัวอย่าง (ก่อนอบ)	น้ำหนัก crucible แก้ว + น้ำหนักตัวอย่าง			% ใยอาหาร	% ใยอาหารเฉลี่ย	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
			ก่อนอบ	หลังอบ	หลังเผา			
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา2: 1ในสภาวะไม่มีอากาศ	29.5896	1.023	30.6169	30.4615	30.1876	26.7742	24.4332	2.0602
	29.9189	1.0762	30.9951	30.5062	30.2519	23.6294		
	29.7296	1.0635	30.7931	30.6074	30.3639	22.8961		
กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับ*B. subtilis* TISR001 ในอัตรา 2: 1 ในสภาวะมีอากาศ	30.2620	1.0153	31.2773	30.9928	30.6883	29.9911	28.7972	1.2209
	30.4059	1.0261	31.4320	31.0599	30.7772	27.5509		
	30.7457	1.0378	31.7835	31.5806	31.2812	28.8495		

ภาคผนวก ง

รูปภาพ

ภาพที่ ง.1 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.2 ลักษณะของกากถั่วเหลืองหลังหมักของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.3 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.4 ลักษณะของกากถั่วเหลืองหลังหมักของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.5 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักในอัตราเชื้อ 1 : 1 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.6 ลักษณะของกากถั่วเหลืองหลังหมักในอัตราเชื้อ 1 : 1 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.7 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักในอัตราเชื้อ 1 : 2 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862

ภาพที่ ง.8 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักในอัตราเชื้อ 1 : 2 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

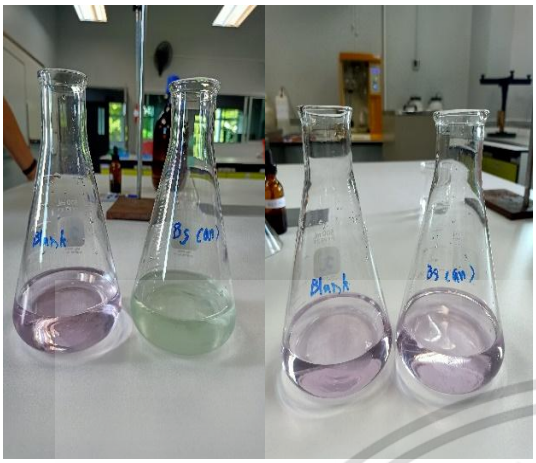
ภาพที่ ง.9 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักในอัตราเชื้อ 2 : 1 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

ภาพที่ ง.10 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนหมักในอัตราเชื้อ 2 : 1 ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ร่วมกับเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ

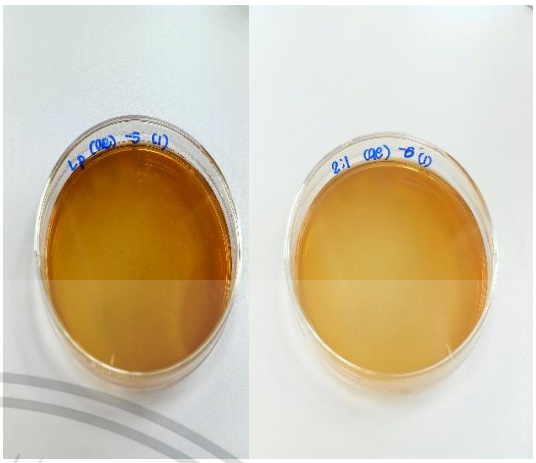
ภาพที่ ง.11 ลักษณะของกากถั่วเหลืองก่อนและหลังหมัก เมื่อนำมาอบให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส

ภาพที่ ง.12 การสกัดของกากถั่วเหลืองหลังจากการอบแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง.13 ตัวอย่างลักษณะการไตเตรทของการวิเคราะห์โปรตีนของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ในสภาวะไม่มีอากาศ



ภาพที่ ง.14 ตัวอย่างของการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ที่ได้จากการหมักกากถั่วเหลือง ในสภาวะที่มีอากาศ

ภาพที่ ง.15 ตัวอย่างของการเจริญเติบโตของ*เชื้อ L. plantarum* TISTR862 ที่ได้จากการหมักกากถั่วเหลือง ในสภาวะที่มีอากาศ

ภาพที่ ง.16 ตัวอย่างของการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ที่ได้จากการหมักกากถั่วเหลือง ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

วิธีการคำนวณ

จ.1 การคำนวณหาจำนวนโคโลนีในหน่วย CFU/ml

1. ความเข้มข้นของเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ที่ใช้ในการหมักกากถั่วเหลือง

ศึกษาจาก **ตารางที่ ค. 2** ชั่วโมงที่ 8 มีการเจริญเติบโตของเชื้อในช่วง Log phase และมีจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

$$\text{ระดับเจือจางทั้งสอง} = \frac{(7.9\times10^{6})+(2.36\times10^{7})}{2} = 1.6 \times 10^{7}\ \text{CFU/ml}$$

2. ความเข้มข้นของเชื้อ *B. subtilis* TISR001 ที่ใช้ในการหมักกากถั่วเหลือง

ศึกษาจาก **ตารางที่ ค.** ชั่วโมงที่ 8 มีการเจริญเติบโตของเชื้อในช่วง Log phase และมีจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้น

$$\text{ระดับเจือจางทั้งหมด} = \frac{(3.1\times10^{6})+(8.8\times10^{9})}{2} = 4.4\times 10^{9}\ \text{CFU/ml}$$

จ.2 การคำนวณปริมาตรเชื้อเริ่มต้นที่ใช้ในการหมัก

จากการศึกษาความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์คือ 40% (v/w) (Y. Wang) โดยอัตราเชื้อคือ 1 ส่วนเท่ากับ 20 มิลลิลิตร

จำนวนกากถั่วเหลืองที่ใช้ในการหมัก 1000 กิโลกรัม 40% ของปริมาณเความชื้น (น้ำเกลือที่ใช้ในการหมัก) คือ $\frac{1000 \times 40}{100} = 400$ ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ.3 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณน้ำตาลที่ได้จากการหมัก

1. การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก.

โดยใช้สมการ y = 1.5318x จาก **ภาพที่ ค.4**

ตัวอย่างได้แก่ กากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ โดยค่า OD. ของกากถั่วเหลืองเท่ากับ 0.7711

จะได้ค่า x = 0.5034 มีการเจือจาง 100 เท่าจะได้ 0.5034 x 100 = 50.3395 mg/ml

เปลี่ยนเป็น g/ml จะได้ $\frac{50.339}{1000}$ = 0.0503 g/ml

แสดงว่ากากถั่วเหลืองหมักที่ถูกสกัดทำให้เข้มข้นปริมาตร 1 ml จะมีน้ำตาลทั้งหมด 0.0503 g

ถ้ากากถั่วเหลืองหมักที่ถูกสกัดทำให้เข้มข้นปริมาตร 200 ml จะมีน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 0.0503 x 200=10.06 g

ดังนั้นในกากถั่วเหลืองหมักเปียก 1000 กรัม จะมีน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 10.06 g

กากถั่วเหลืองหมักเปียกน้ำหนัก 1000 กรัม จะเท่ากับ กากถั่วเหลืองหมักแห้งน้ำหนัก 550 กรัม

ถ้ากากถั่วเหลืองหมักเปียกน้ำหนัก 1000 กรัม จะมีน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 10.06 g

ดังนั้นกากถั่วเหลืองหมักแห้งน้ำหนัก 550 กรัม จะมีน้ำตาลทั้งหมด $\frac{(550 \times 10.06)}{1000}$ = 5.533 g

แสดงว่าในกากถั่วเหลืองหมัก 1 กรัมจะมีน้ำตาลทั้งหมด เท่ากับ $\frac{(1 \times 5.533)}{550}$ = 0.0101 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี DNS

โดยใช้สมการ y = 0.5835x จาก **ภาพที่ ค.3**

ตัวอย่างได้แก่ กากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* TISTR862 ในสภาวะไม่มีอากาศ โดยค่า OD. ของกากถั่วเหลืองเท่ากับ 0.0893

จะได้ค่า x = 0.1530 มีการเจือจาง 10 เท่าจะได้ 0.1530 x 10 = 1.53 mg/ml

เปลี่ยนเป็น g/ml จะได้ $\frac{1.53}{1000}$ = 0.00153 g/ml

แสดงว่ากากถั่วเหลืองหมักที่ถูกสกัดทำให้เข้มข้นปริมาตร 1 ml จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ 0.00153 g

ถ้ากากถั่วเหลืองหมักที่ถูกสกัดทำให้เข้มข้นปริมาตร 200 ml จะมีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.00153 x 200=0.306 g

ดังนั้นในกากถั่วเหลืองหมักเปียก 1000 กรัม จะมีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.306 g

กากถั่วเหลืองหมักเปียกน้ำหนัก 1000 กรัม จะเท่ากับ กากถั่วเหลืองหมักแห้งน้ำหนัก 550 กรัม

ถ้ากากถั่วเหลืองหมักเปียกน้ำหนัก 1000 กรัม จะมีน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.306 g

ดังนั้นกากถั่วเหลืองหมักแห้งน้ำหนัก 550 กรัม จะมีน้ำตาลรีดิวซ์ $\frac{(550 \times 0.306)}{1000}$ = 0.1683 g

แสดงว่าในกากถั่วเหลืองหมัก 1 กรัมจะมีน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ $\frac{(1 \times 0.1683)}{550}$ = 0.00031 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวเบญจมาศ นามคาน
วัน เดือน ปีเกิด	23 พฤษภาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2562 ระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม ปีการศึกษา 2558 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนรัตนโกสินทร์สมโภชบวรนิเวศศาลายา ในพระสังฆราชูปถัมภ์
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย	พฤษภาคม 2562 – มิถุนายน 2562 บริษัท แดรี่โฮม จำกัด (นักศึกษาฝึกงาน) ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis*
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวแสงเดือน แซ่ไหล
วัน เดือน ปีเกิด	29 พฤษภาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2562 ระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม ปีการศึกษา 2558 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนโพธาวัฒนาเสนี แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์
ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย	พฤษภาคม 2562 – มิถุนายน 2562 บริษัท แดรี่โฮม จำกัด (นักศึกษาฝึกงาน) ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* ร่วมกับ *Bacillus subtilis*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

แบบฟอร์มการตรวจสอบการคัดลอกผลงานทางวิชาการ

ข้าพเจ้า (~~นาย~~/~~นาง~~/นางสาว) แสงเดือน แซ่ไหล รหัสนักศึกษา 59080125

ระดับ (ปริญญาตรี/~~ปริญญาโท~~/~~ปริญญาเอก~~) สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม สังกัดวิชา อุตสาหกรรมเกษตร

คณะ อุตสาหกรรมเกษตร

ได้เสนอ

วิทยานิพนธ์	โครงงานพิเศษ	สหกิจศึกษา
การค้นคว้าอิสระ	✓ ปัญหาพิเศษ	เทียบเท่า ระบุ.....
ปริญญานิพนธ์	การศึกษาอิสระ	

หัวข้อเรื่อง

(ไทย) ผลของแหล่งคาร์บอนในกากถั่วเหลืองหมักจากจุลินทรีย์ Lactobacillus plantarum ร่วมกับ Bacillus subtilis

(อังกฤษ) Effect of carbon soures from okara fermented by microbial L.plantarum with B.subtilis

ได้ตรวจเช็คผลงานวิชาการข้างต้นแล้ว ในภาคเรียนที่ 2 วันที่ 10 เดือน สิงหาคม ปี 2563

โดยใช้โปรแกรม

☑ อักขราวิสุทธิ์ ☐ TURNITIN

ทั้งนี้ ตรวจสอบพบความเหมือนของเนื้อหา 1.30 % โดยอาจารย์ที่ปรึกษายอมรับได้ว่าไม่ได้คัดลอกข้อความที่มีสาระสำคัญจากผลงานของผู้อื่น

ลายมือชื่อนักศึกษา แสงเดือน แซ่ไหล

(นางสาว แสงเดือน แซ่ไหล)

วันที่ 10 สิงหาคม 2563

ได้รับความเห็นชอบจากอาจารย์ที่ปรึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อุมาพร

(ดร. อุมาพร นิตรศรีสุวรรณ)

วันที่ 11 สิงหาคม 2563