การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติก จากกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับสภาพความเป็นกรด

The study of optimum conditions for the growth of lactic acid bacteria from fermented okara with acidification

อาทิตยาภรณ์ อัตตกิจกุล

อารียา คนไว

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติก

จากกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับสภาพความเป็นกรด

The study of optimum conditions for the growth of lactic acid bacteria

from fermented okara with acidification

จัดทำโดย

อาทิตยาภรณ์ อัตตกิจกุล รหัสนักศึกษา 59080131

อารียา คนไว รหัสนักศึกษา 59080132

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

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

(ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติกจากกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับสภาพความเป็นกรด

ชื่อนักศึกษา นางสาว อาทิตยาภรณ์ อัตตกิจกุล รหัสนักศึกษา 59080131

นางสาว อารียา คนไว รหัสนักศึกษา 59080132

หลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

พ.ศ. 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกจากธรรมชาติในกากถั่วเหลือง โดยมีวัตถุประสงค์ในการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกในกากถั่วเหลืองโดยการปรับสภาพความเป็นกรด โดยแบ่งการทดลองเป็น 6 การทดลอง ซึ่งในการทดสอบนี้มีการใช้ความเข้มของกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ 2.5% (v/v) และควบคุมสภาวะในการหมักกากถั่วเหลืองโดยใช้ 2 สภาวะ คือมีอากาศและ facultative anaerobe แล้วนำผลมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และค่า Degree of polymerization(DP) ของกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมักมีค่า 1.82 , 1.46 และ 1.24 ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) ค่าที่ได้คือ 0.53±0.29, 0.68±0.22, 0.59±0.21, 0.76±0.57, 1.45±1.54 และ1.35±1.65 mg/ml ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะที่มีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) คือ 1.64±0.89, 1.45±1.04, 0.92±0.92, 0.64±0.22, 1.63±1.49 และ 0.70±0.45 ตามลำดับ และนำค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาหาค่า Degree of polymerization (DP) ของกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) ค่าที่ได้คือ 0.44±0.34, 0.13±0.31, 0.55±0.31, 1.25±0.87, 1.03±0.93 และ 1.95±1.29 ตามลำดับ โดยพบว่ากากถั่วเหลืองหมักในสภาวะ facultative anaerobe ที่เปอร์เซนต์กรดอะซิติก 2.5% เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักกากถั่วเหลือง เนื่องจากพบว่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นมากที่สุดและค่า DP ลดลงมากที่สุด และพบว่าเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่ *E. coli* มีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก

คำสำคัญ : กากถั่วเหลือง,จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก, กรดอะซิติก, กากถั่วเหลืองหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem tittle The study of optimum conditions for the growth of lactic acid bacteria from fermented okara with acidification

Student name Miss Arthitayaporn Attakitkul Student ID. 59080131

Miss Areeya khonwai Student ID. 59080132

Program Industrial Fermentation Technology

Year 2020

Advisor Dr. Umarphorn Chadseesuwan

ABSTRACT

This research pointed on fermented Okara with the natural lactic acid bacteria. The research's objective focused on finding the adjusted suitable acidity conditions for the growth of lactic acid bacteria in Okara. There were six experiments with 1.5%, 2% and 2.5% (v/v) of acetic acid intensity at two fermenting aerobic and facultative anaerobe conditions. The experimental results were: the total sugar, reducing sugar, and degree of polymerization (DP) of unfermented Okara value 1.82, 1.46 and 1.24 respectively. Total sugar of Okara in aeration and facultative anaerobe had acetic concentration: 0.53 ± 0.29, 0.68 ± 0.22, 0.59 ± 0.21, 0.76 ± 0.57, 1.45 ± 1.54 and 1.35 ± 1.65, respectively. Reducing sugar of Okara in aeration and facultative anaerobe had acetic concentration: 1.64 ± 0.89, 1.45 ± 1.04, 0.92 ± 0.92, 0.64 ± 0.22, 1.63 ± 1.49 and 0.70 ± 0.45 mg/ml, respectively. Degree of polymerization (DP) of unfermented Okara in aeration and facultative anaerobe had acetic concentration: 0.44 ± 0.34, 0.13 ± 0.31, 0.55 ± 0.31, 1.25 ± 0.87, 1.03 ± 0.93 and 1.95 ± 1.29 mg/ml, respectively. Furthermore, Okara in facultative anaerobe at 2.5% acetic acid had been a suitable acidity condition. That suitable acidity condition made total sugar reduce, made reducing sugar increase the most, and made the degree of polymerization (DP) of unfermented Okara decrease the most. Besides, the suitable acidity condition made natural lactic acid bacteria increase but made E. coli decrease when compared with unfermented Okara.

Keywords : Okara, Lactic acid bacteria, Acetic acid, Fermented okara

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จไปได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัยนี้ ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำแนะนำช่วยเหลือและช่วยตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ จนงานวิจัยเล่มนี้สำเร็จได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ยังได้รับความอนุเคราะห์จาก ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่ช่วยติดต่อในการรับกากถั่วเหลืองเพื่อนำมาวิจัยและขอขอบคุณทางบริษัท แลคตาซอย จำกัดที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ให้กากถั่วเหลืองนำมาวิจัย

ขอขอบพระคุณพี่ๆนักวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง ที่คอยให้คำแนะนำตลอดจนให้การช่วยเหลือในการปฏิบัติการวิจัยและอำนวยความสะดวกเรื่องเครื่องมือ อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจในการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอบคุณเพื่อนๆสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักทุกคนที่ให้การช่วยเหลือในสิ่งที่สงสัย จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณไว้ ณ ที่นี้

อาทิตยาภรณ์ อัตตกิจกุล

อารียา คนไว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 กากถั่วเหลือง	2
2.2 กากถั่วเหลืองหมัก	3
2.3 คาร์โบไฮเดรต	5
2.4 จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (Lactic acid bacteria)	6
2.5 จุลินทรีย์ก่อโรค	10
2.6 น้ำตาลรีดิวซ์และนอนรีดิวซ์ (Reducing and non-reducing sugars)	12
2.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar analysis) ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method	13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
2.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar analysis) ด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid method	14
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	14
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	21
3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	21
3.2 สารเคมี	21
3.3 วิธีดำเนินการ	23
3.4 การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ	24
3.5 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์	24
3.6 การวิเคราะห์ทางเคมี	25
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง	28
4.1 ผลของการใช้เปอร์เซนต์กรดและสภาวะที่แตกต่างกัน	28
4.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์	30
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์และค่าDegree of Polymerization (DP) ของกากถั่วเหลืองไม่หมักและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก	32
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	35
5.1 สรุปผลการวิจัย	35
5.2 ข้อเสนอแนะ	35
เอกสารอ้างอิง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี	39
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	42
ภาคผนวก ค วิธีคำนวณ	50
ภาคผนวก ง รูปภาพปฏิบัติงานวิจัย	66
ประวัติผู้เขียน	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 1 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย 8

ตารางที่ 4.1.1 ค่าพีเอชที่วัดได้จากตัวอย่างกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก 28

ตารางที่ 4.1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก 29

ตารางที่ 4.2.1 ปริมาณเชื้อ เชื้อ Lactic acid bacteria และ *E.coli* ที่ความเข้มข้นกรดอะซิติก 31
1.5%, 2% และ 2.5% ในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe

ตารางที่ 4.3.1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และจำนวน Degree polymerization 33
ของตัวอย่างกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและ
facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดที่ 1.5%, 2% และ 2.5%

ตารางที่ ค.1 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อ *E.coli* 51

ตารางที่ ค.2 การคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 52

ตารางที่ ค.3 การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 54

ตารางที่ ค.4 การคำนวณ Degree of polymerization 55

ตารางที่ ค.5 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น 56

ตารางที่ ค.6 การคำนวณปริมาณหาปริมาณเถ้า 58

ตารางที่ ค.7 การคำนวณปริมาณหาปริมาณโปรตีนรวม 60

ตารางที่ ค.8 การคำนวณปริมาณหาปริมาณไขมัน 62

ตารางที่ ค.9 การคำนวณปริมาณหาปริมาณใยอาหาร 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

ภาพที่ **หน้า**

ภาพที่ 4.3.1 แผนภูมิแท่งแสดงผลเฉลี่ยค่าน้ำตาลทั้งหมด,น้ำตาลรีดิวซ์ และ Degree polymerization ในกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น1.5, 2 และ 2.5% (v/v) ในสภาวะมีอากาศและfacultative anaerobe 34

ภาพที่ ง.1 การหมักกากถั่วเหลือง 67

ภาพที่ ง.2 สภาพถั่วเหลืองก่อนหมัก(มีอากาศ) 67

ภาพที่ ง.3 สภาพถั่วเหลืองหลังหมักไว้ 7 วัน (มีอากาศ) 67

ภาพที่ ง.4 สภาพถั่วเหลืองก่อนหมัก (Facultative anaerobe) 68

ภาพที่ ง.5 สภาพถั่วเหลืองหลังหมัก (Facultative anaerobe) 68

ภาพที่ ง.6 การวิเคราะห์ไขมัน 68

ภาพที่ ง.7 ทำ evaporator 68

ภาพที่ ง.8 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีบนอาหาร EMB 69

ภาพที่ ง.9 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีบนอาหาร MRS 69

ภาพที่ ง.10 รูปร่างเซลล์ Lactic acid bacteria ผ่านกล้องจุลทรรศน์ 69

ภาพที่ ง.11 ลักษณะโคโลนี E.coli ผ่านกล้องจุลทรรศน์ 69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สืบเนื่องมาจากอุตสาหกรรมถั่วเหลืองในปัจจุบันมีการผลิตเป็นจำนวนมากและมีผลพลอยได้คือกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นของเสียจากอุตสาหกรรมถั่วเหลือง แต่กับพบว่าผลวิเคราะห์ในกากถั่วเหลืองอุดมไปด้วยใยอาหาร โปรตีน ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุ เพื่อเพิ่มมูลค่าและลดปริมาณของเสียจากกากถั่วเหลืองเราจึงได้ศึกษาเพื่อพัฒนากากถั่วเหลืองให้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารของสุกรได้ แต่มีงานวิจัยการนำกากถั่วเหลืองดิบมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงลูกสุกรพบว่าลูกสุกรไม่สามารถย่อยสารอาหารทางโภชนาการได้ (Andrade และคณะ, 2016; Pascual และคณะ, 2017) จึงมีการวิจัยการหมักกากถั่วเหลืองเพื่อลดสารต้านโภชนาการในกากดูดซึมสารอาหารของลูกสุกรโดยใช้ *Lactobacillus plantarum* ในการหมัก (Adeyemo และคณะ, 2013) โดยเราจึงศึกษาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกจากธรรมชาติในกากถั่วเหลืองนำมาผ่านกระบวนการหมักโดยใช้กรดเพื่อปรับสภาวะให้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อกลุ่มแลคติกและตรวจติดตามผลการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกและเชื้อก่อโรค เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักกากถั่วเหลืองที่เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกสามารถเจริญได้ดีที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกจากธรรมชาติในกากถั่วเหลือง

1.2.2 ศึกษาปริมาณกรดที่เหมาะสมต่อสภาวะการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มแลคติกในธรรมชาติจากกากถั่วเหลือง

1.2.3 เปรียบเทียบผลการเจริญของเชื้อกลุ่มแลคติกเช่น *L. plantarum* กับเชื้อก่อโรคเช่น *Escherichia coli* จากกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะที่เป็นกรด

1.2.4 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กากถั่วเหลือง

กากถั่วเหลืองนิยมนำมาทำเป็นอาหารสัตว์เพราะประหยัดและคุณค่าสูง สำหรับผู้ประกอบการฟาร์มสัตว์ต่างๆ ในปัจจุบันไม่ว่าจะเป็นฟาร์มหมู ฟาร์มไก่ ฟาร์มวัวหรือแม้แต่กระทั่งสัตว์น้ำอย่างปลา กุ้ง เป็นต้น สิ่งที่สำคัญที่สุดก็คงเป็นอาหารสัตว์เหล่านั้นในปัจจุบันอาหารสัตว์มีให้เลือกมากมายหลายแบบ อย่างเช่นอาหารสำเร็จรูป อาหารผสมและหนึ่งในอาหารที่เป็นที่นิยมมากก็คือ กากถั่วเหลืองเพราะอุดมไปด้วยโปรตีนและสารอาหารหลักต่างๆมากมาย ราคาไม่แพง สามารถควบคุมต้นทุนอาหารสัตว์ได้อย่างแน่นอน อย่างไรก็ตามการประยุกต์ใช้กากถั่วเหลืองในการทำผลิตภัณฑ์อาหารสัตว์นั้นมีข้อจำกัด เนื่องมาจากปัจจัยในด้านการต้านสารโภชนาการ แอนติเจนของโปรตีนที่รบกวนการย่อยอาหาร การดูดซึมและการนำสารอาหารมาใช้ (Holm และคณะ, 1992; Hongและคณะ, 2004) การนำกากถั่วเหลืองมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนสำหรับสัตว์จะต้องได้รับความร้อนที่เพียงพอ เนื่องจากกากถั่วเหลืองดิบมีสารต้านโภชนาการ เช่น Trypsin inhibitor, Lectin และ B-conglycinin โดยรวมสารดังกล่าวมีผลทำให้การย่อยได้ลดลงโดยเฉพาะในสัตว์เล็กจะแสดงอาการโตช้าลง อัตราการให้ผลผลิตลดลง มีผลทำให้การย่อยโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันลดลง (Herkelma และคณะ, 1992)

2.1.1 ลักษณะของกากถั่วเหลืองที่ไม่ควรนำมาใช้เลี้ยงสัตว์คือ

2.1.1.1 มีความชื้นสูง กากถั่วเหลืองที่มีความชื้นสูงจะมีลักษณะจับกันเป็นก้อน มีขนาดไม่แน่นอนและเกิดเชื้อราได้ง่าย (พันทิพา, 2539)

2.1.1.2 ดิบหรือไหม้ ซึ่งเป็นผลจากการให้ความร้อนในขบวนการเผาไหม้ กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีสาร Trypsin Inhibitor ค่อนข้างสูงและยังมีเอ็นไซม์ยูรีเอสเหลืออยู่ค่อนข้างสูง กากถั่วเหลืองที่เหมาะสำหรับใช้เลี้ยงสัตว์ควรจะมีค่า Urease Index (pH) อยู่ในช่วง 0.02–0.2 ซึ่งจากการตรวจสอบตัวอย่างกากถั่วเหลืองโดยกองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์กรมปศุสัตว์พบว่าตัวอย่างกากถั่วเหลืองจำนวน 98 เปอร์เซ็นต์ มีค่าpH อยู่ในช่วง 0–0.25 ส่วนตัวอย่างกากถั่วเหลืองที่ค่อนข้างดิบมีค่าpH สูงกว่า 0.25 มีเพียง 2 เปอร์เซนต์เท่านั้น (พันทิพา, 2539)

กากถั่วเหลืองไหม้ จะสังเกตได้ว่ามีกลิ่นเหม็นไหม้และมีรสขม เพราะความร้อนที่ใช้ในขบวนการผลิตสูงกว่าอุณหภูมิที่กำหนด กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีคุณค่าทางอาหารลดต่ำลงเพราะการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหาร โดยเฉพาะกรดอะมิโนจำเป็น เช่น ไลซีน เมทไธโอนีน จะใช้ได้น้อยลง (พันทิพา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1.3 กากถั่วเหลืองเก่า จะมีกลิ่นเหม็นหืน เหม็นสาบ มีแมลงขึ้นหรืออาจเกิดเชื้อรา ดังนั้นเกษตรกรที่ซื้อกากถั่วเหลืองมาเพื่อผสมอาหารสัตว์จะต้องระวัง ไม่เลือกซื้อกากถั่วเหลืองที่มีลักษณะดังกล่าว เพราะสัตว์ไม่ชอบกิน จะกินน้อยลงทำให้สัตว์ได้รับอาหารไม่เพียงพอต่อความต้องการ คุณค่าทางอาหารต่ำ โดยโปรตีนจะลดลงทั้งปริมาณ และคุณภาพ อาจมีสารAflatoxinจากเชื้อราหรืออาจปนเปื้อนเชื้อโรคติดต่อจากสัตว์ (พันทิพา, 2539)

2.1.1.4 มีสิ่งปลอมปน ซึ่งบางครั้งจะสังเกตุเห็นได้ยาก กากถั่วเหลืองประเภทนี้จะมีคุณค่าทางอาหารผิดปกติเช่น ปลอมปนด้วยซังข้าวโพดหรือรำข้าว จะทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงในขณะที่ค่าเถ้าอยู่ในระดับปกติ ถ้าปลอมปนด้วย ดิน หิน จะทำให้โปรตีนลดลง แต่ปริมาณเถ้าเพิ่มขึ้นหรือถ้าปลอมปนด้วยกากถั่วเหลือง จะไม่ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลง แต่คุณภาพของโปรตีนจะลดลง (พันทิพา, 2539)

2.2 กากถั่วเหลืองหมัก

สัตว์แต่ละชนิดต้องการปริมาณอาหารและพลังงานที่แตกต่างกันเพื่อความอยู่รอดและการเติบโตในแต่ละขั้นตอน ดังนั้นวัตถุดิบที่ใช้เป็นสารปรุงแต่งอาหารเช่นปลาป่นกากถั่วเหลืองรำข้าวปลายข้าวกากถั่วเหลืองหมักรวมทั้งอาหารเสริมเช่นโพรไบโอติกหรืออาหารสำเร็จรูปต้องมีคุณภาพดี ต้องตรวจสอบแหล่งที่มาของวัตถุดิบในขณะที่ต้องใช้เทคนิคการให้อาหารที่มีประสิทธิภาพเพื่อตอบสนองความต้องการของสัตว์ดังกล่าว

กากถั่วเหลืองหมักเป็นหนึ่งในวัตถุดิบที่มีประสิทธิภาพที่สุดที่สามารถทดแทนโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น การหมักกากถั่วเหลืองมีจุดประสงค์คือการช่วยให้การย่อยโปรตีนสามารถแปลงเป็นรูปแบบของเปปไทด์สั้นหรือกรดอะมิโนอิสระที่จะช่วยให้การย่อยอาหารง่ายและรวดเร็วรวมถึงการดูดซับโปรตีนดังกล่าว ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมักได้รับการคัดเลือกมาอย่างดีเพื่อให้แน่ใจว่ามีคุณภาพในการสร้างเอนไซม์โปรติเอสเช่น *Bacillus spp., Aspergillus spp.* เป็นต้น (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

กากถั่วเหลืองดิบเป็นแหล่งโปรตีนสามารถผสมกับอาหารสัตว์ได้ อย่างไรก็ตามกากถั่วเหลืองดิบสามารถก่อให้เกิดผลกระทบในทางลบต่อสัตว์ได้เนื่องจากมีปัจจัยต่อต้านสารอาหารเช่นสารยับยั้งทริปซิน, เลคตินและคอนไกลซินิน โดยทั่วไปสารดังกล่าวทำให้ผลผลิตลดลงซึ่งจะช่วยลดการย่อยโปรตีนคาร์โบไฮเดรตและไขมัน (Herkelma *et al.*, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจุบันคุณภาพกากถั่วเหลืองหมักได้รับการปรับปรุงอย่างต่อเนื่องเพื่อให้โปรตีนมีคุณภาพใกล้เคียงกับกากปลา สิ่งนี้สามารถทำได้โดยการใช้เอนไซม์จาก *Bacillus spp.*ในกระบวนการหมัก ดังนั้นโปรตีนสามารถถูกย่อยได้ง่ายขึ้นในขณะที่ปัจจัยต่อต้านสารอาหารเช่น ทริปซินยับยั้ง, B-conglycinin และเลคตินจะถูกกำจัด นอกจากนี้เปปไทด์ขนาดเล็กหรือเปปไทด์สั้นเป็นโปรไบโอติกที่ย่อยง่าย ดังนั้นสัตว์สามารถดูดซึมสารอาหารเหล่านี้ได้เร็วขึ้น เปปไทด์ขนาดเล็กเหล่านี้ละลายได้ง่ายและอำนวยความสะดวกและปรับสมดุลระบบทางเดินอาหารดังนั้นจำนวนโปรไบโอติกจะสูงกว่าของเชื้อโรคและยับยั้งเชื้อโรคเหล่านี้จากการเจริญเติบโตต่อไป (วรารักษ์ และคณะ, 2562)

กากถั่วเหลืองหมักเหมาะสำหรับอาหารสัตว์เนื่องจาก

- กากถั่วเหลืองหมักสามารถใช้เป็นอาหารเสริมโปรตีนสำหรับสัตว์ทุกชนิดโดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับสัตว์เล็ก (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- กากถั่วเหลืองหมักจะปรับปรุงการใช้โปรตีนเนื่องจากโปรตีนดังกล่าวถูกย่อยและกลายเป็นเปปไทด์สั้นและกรดอะมิโนอิสระ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- กากถั่วเหลืองหมักมีปัจจัยต่อต้านสารอาหารต่ำซึ่งไม่รบกวนคลองทางเดินอาหารของสัตว์เล็ก ดังนั้นสัตว์จะได้รับประโยชน์อย่างเต็มที่จากสารอาหารเหล่านี้ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- กากถั่วเหลืองหมักสามารถแทนที่แหล่งโปรตีนอื่นๆ ที่มีราคาแพงกว่าเช่นโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้นหรือสามารถทดแทนโปรตีนจากสัตว์ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- สุขภาพของสัตว์จะดีขึ้นเนื่องจากไม่มีความเสี่ยงอีกต่อไปเนื่องจากสารยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราและน้ำตาลที่ไม่มีประสิทธิภาพ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- กากถั่วเหลืองหมักมีกลิ่นหอมดังนั้นจึงกระตุ้นความอยากอาหารของสัตว์ (ชูศักดิ์ และคณะ, 2562)

- จุลินทรีย์จัดเป็นโปรไบโอติกช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของสัตว์สมดุลระบบทางเดินอาหารควบคุมเชื้อโรคและสามารถทดแทนยาปฏิชีวนะในระยะยาวหากใช้อย่างต่อเนื่อง (ณัฐธิดา, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารชีวโมเลกุลที่สำคัญที่เป็นองค์ประกอบของสิ่งมีชีวิตทุกชนิด คำว่าคาร์โบไฮเดรตมีรากศัพท์มาจากคำว่า คาร์บอน (carbon) และคำว่าไฮเดรต (hydrate) อิ่มตัวไปด้วยน้ำ ซึ่งรวมกันก็หมายถึง คาร์บอนที่อิมตัวไปด้วยน้ำ เนื่องจากสูตรเคมีอย่างง่ายก็คือ $(C{\bullet}H_2O)_n$ ซึ่ง $n \geq 3$ โดยคาร์โบไฮเดรตจัดเป็นสารประกอบแอลดีไฮด์ (aldehyde) หรือคีโทน (ketone) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group, -OH) เกาะอยู่เป็นจำนวนมาก จึงเรียกว่า สารประกอบโพลีไฮดรอกซีแอลดีไฮด์ (polyhydroxyaldehyde) หรือโพลีไฮดรอกซีคีโทน (polyhydroxyketone) ซึ่งการที่มีหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลนั้น ทำให้เกิดการวางตัวกัน และยังสามารถทำปฏิกิริยาหรือสร้างพันธะกับสารอื่นๆได้ ดังนั้น คาร์โบไฮเดรตจึงมีความหลากหลายทั้งในด้านของโครงสร้างทางเคมีและบทบาททางชีวภาพอีกด้วย หน่วยที่เล็กที่สุดของคาร์โบไฮเดรตก็คือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมโนแซคคาร์ไรด์

ประเภทของคาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตเป็นสารอาหารหลักซึ่งให้พลังงานเท่ากับ โปรตีน คือ 4 กิโลแคลลอรี่/1 กรัม ประกอบด้วย C คาร์บอน H ไฮโดรเจน และ O ออกซิเจน เป็นอัตราส่วน n:2n:n คาร์โบไฮเดรต แบ่งออกเป็น 3 อย่าง คือ

2.3.1 น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ได้แก่ กลูโคส, ฟรุคโตส, กาแลคโตส

2.3.2 น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharides) ได้แก่ มอลโตส, แลคโตส, ซูโครส

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะรวมตัวเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ด้วยพันธะไกลโคซิดิก ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของน้ำตาลตัวหนึ่งกับคาร์บอนของน้ำตาลอีกตัวหนึ่ง ตำแหน่งที่เกิดพันธะไกลโคซิดิกแสดงโดย (1⟶4) ซึ่งแสดงว่า C1 ของตัวแรกต่อกับ C4 ของน้ำตาลตัวที่สอง

2.3.3 พอลิแซ็คคาไรด์ (polysaccharides) ได้แก่ แป้ง, ไกลโคเจน, เซลลูโลส

เกิดจากการต่อกันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจนเป็นสายยาว โพลีแซคคาไรด์แบ่งเป็นสองชนิดคือ โฮโมโพลีแซคคาไรด์ ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดเดียว กับเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหลายชนิด โพลีแซคคาไรด์ที่สำคัญมีหลายชนิด ได้แก่ แป้ง เป็นอาหารสะสมในเซลล์พืช ประกอบด้วยโพลีเมอร์ของกลูโคสสองชนิดคือ อะไมโลส ไม่แตกกิ่ง ต่อด้วย (α1⟶ 4) กับอะไมโลเพกติน เป็นสายโพลีแซคคาไรด์ที่แตกกิ่ง โดยส่วนที่เป็นเส้นตรงต่อด้วย (α1⟶ 4) และส่วนที่แตกกิ่งต่อด้วย (α1⟶ 6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไกลโคเจน เป็นอาหารสะสมในเซลล์สัตว์ มีโครงสร้างคล้ายอะไมโลเพกตินแต่แตกกิ่งมากกว่า

เซลลูโลส เป็นโครงสร้างของเซลล์พืช ลักษณะเป็นโซ่ตรงของกลูโคส ไม่แตกกิ่ง ต่อกันด้วยพันธะ ($\beta 1 \longrightarrow 4$)

ไคทิน เป็นโครงสร้างของเซลล์สัตว์ พบในเปลือกหอย กุ้ง ปู เป็นโฮโมโพลีแซคคาไรด์ของ N-acetyl-D-glucosamine ต่อกันด้วยพันธะ β เปบทิโดไกลแคน เป็นโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรีย ประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ของ N-acetylglucosamine และ N-acetylmuramic acid ต่อกันด้วยพันธะ ($\beta 1 \longrightarrow 4$) ไกลโคซามิโนไกลแคน เป็นส่วนประกอบของสารที่อยู่ระหว่างเซลล์สัตว์ ประกอบด้วยโพลีแซคคาไรด์ของน้ำตาลโมเลกุลคู่ซ้ำๆกัน คือ hyaluronic acid (ประกอบด้วย glucoronic acid กับ acetylglucosamine)

2.4 จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (nonmotile) ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส (catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆและการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ การผลิตเกลือแลคติกเชื้อเจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง (Wood and Holzapfel, 1997) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก เป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในนม ผัก และผลไม้ ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย แบคทีเรียแลคติกขาดสารไซโตโครม (cytochromes) และฟอร์ไฟลิน (porphyrins) จึงไม่ให้เอนไซม์แคตาเลสและออกซิเดส (สุมณฑา, 2545)

2.4.1 แบคทีเรียแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรต เกิดกรดแลคติกจากปฏิกิริยา 2 ทาง คือ วิถีทางที่ได้แลตเตทเพียงอย่างเดียวเรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) และวิถีทางที่ได้แลคเตทร่วมกับสารอื่นในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) (สมใจ, 2537)

2.4.1.1 โฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ซึ่งพวกนี้จะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล เป็นกรดแลคติก 1.8 โมล และได้กรดอะซิติก เอทานอล และ คาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.2 เฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ เป็นแบคทีเรียที่หมักคาร์โบไฮเดรต เช่น เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นกรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 นอกนั้นให้ กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล แล้วสร้างกรดแลคติกได้น้อยกว่า 1.8 โมล

2.4.2 ในปัจจุบันได้มีการจัดจำแนกแบคทีเรียแลคโตบาซิลไล ออกเป็นกลุ่มย่อย 3กลุ่ม ดังนี้ (สุมณฑา, 2545)

2.4.2.1 กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (obligate homofermenter) สปีชีที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus, L. delbruckii* และ *L. helveticus*

2.4.2.2 กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักได้ทั้งสองแบบ (facultative heterofermenter) สปีชีที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *L. plantarum, L. casei* และ *L. sake*

2.4.2.3 กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (obligate heterofermenters) สปีชีที่นิยมใช้หมัก ได้แก่ *L. bervis, L. fermentum* และ *L. kefir* สำหรับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่แลคโตแบซิลไล (สุมณฑา, 2545) ประกอบด้วย

- จีนัส *Leuconostoc* เป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีรูปร่างกลม เป็นลักษณะสำคัญ ที่ทำให้สามารถจำแนกออกจากพวกแลคโตแบซิลไลได้ง่าย แบคทีเรียชนิดนี้ไม่นิยมนำมาใช้ในการหมักกรดแลคติก เพราะเกิดเมือก

- จีนัส *Pediococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกที่นิยมนำมาใช้หมักกรดแลคติกมากกว่า เช่น *P. pentosaceus* ส่วน *P. halophilus* ในปัจจุบันถูกจัดไว้ในสปีชีใหม่ในชื่อว่า *Tetragenococcus halophilus*

- จีนัส *Streptococcus* เป็นแบคทีเรียแลคติกอีกสปีชีหนึ่ง จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียในกลุ่มเสตรปโตคอกไคมีลักษณะเด่นที่สามารถจำแนกยย่อยออกได้เป็น 3กลุ่ม (จีนัส) คือ *Enterococci*, *Lactococcus* และ *Streptococcus*

2.4.3 สภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติก

2.4.3.1 อุณหภูมิ

การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ใดๆ ก็ตามเพื่อให้ได้ปริมาณมาก จำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับเชื้อนั้นๆ สำหรับแบคทีเรียแลคติก อุณหภูมิที่เหมาะสมจะแตกต่างกันไปในแต่ละสกุล ดังรายละเอียดในตารางที่ 1 (ดวงรัตน์และนันทพล, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

สกุล	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)
Lactobacillus spp.	
thermobacterium	37 – 45
streptobacterium	28 – 32
betabacterium	28 – 40
Pediococcus spp.	25 – 33
Streptococcus spp.	30 – 37
Leuconostoc spp.	20 -25

2.4.3.2 ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง

ถึงแม้แบคทีเรียแลคติกจะเจริญได้ที่ระดับค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วงค่อนข้างกว้าง (4-7.5) แต่ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมโดยทั่วๆไปจะอยู่ในช่วงประมาณ 6-6.5 และเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเมแทบอไลซ์น้ำตาลเป็นกรดแลคติก ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารลดลงอย่างรวดเร็ว จึงจำเป็นต้องคอยปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้สูงขึ้น การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เป็นกรดนั้น นอกจากการเจริญจะช้าลงแล้ว ยังมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อในขณะเก็บ เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีกรดมากๆ เซลล์บางส่วนจะบาดเจ็บ และไม่สามารถดำเนินกิจกรรมการหมักได้ทันที (ดวงรัตน์ และนันทพล, 2539)

2.4.4 การสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

บทบาทของแบคทีเรียแลคติกในอาหารหมัก พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจัยที่เกี่ยวข้อง (สุมณฑา, 2545) ได้แก่

2.4.4.1 การลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง และการเกิดกรดอินทรีย์

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก จะให้กรดอินทรีย์ คือ กรดแลคติกและกรดอะซิติก เป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของซับสเตรตต่ำลง ความเป็นกรดสูงและค่าความเป็นกรด-ด่าง ต่ำจึงมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ (สุมณฑา, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.2 การเกิดแบคเทอริโอซิน (bacteriocin)

แบคเทอริโอซินเป็นสารประเภทเปปไทด์หรือโปรตีนที่สามารถฆ่าแบคทีเรีย ซึ่งมีลักษณะนิสัยคล้ายกับแบคทีเรียที่ให้กรดแลคติกได้ เนื่องจากแบคเทอริโอซินเป็นสารที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติจึงมีความปลอดภัยมากกว่าสารเคมีสังเคราะห์ที่นำมาใช้เป็นยาปฏิชีวนะเพื่อยับยั้งจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม แบคเทอริโอซินที่ยอมรับและอนุญาตให้นำมาใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้ในขณะนี้มีเพียงไนซินอย่างเดียว ไนซินผลิตมาจากแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* บางสายพันธุ์ในประเทศอังกฤษและประเทศอื่นบางประเทศได้ใช้ไนซินเป็นวัตถุกันเสียในอาหารมาตั้งแต่ต้น ทศวรรษที่1950 ในขณะที่องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (The United States Food and Drug Administration) ผ่านกฎหมายยอมรับไนซินเป็นวัตถุเจือปน (กันเสีย) เมื่อปีค.ศ. 1988 ลักษณะการทำลายแบคทีเรียของไนซินเป็นแบบทำลายแบคทีเรียแกรมบวกทั่วไปและสามารถทำลายเยื่อหุ้มภายนอกเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบบางชนิด มีลักษณะคล้ายกับถูกบำบัดด้วยสารคีเลทติ้ง (chelating agent) เช่น กรดเอธิลลีนไดเอมีนเตตระอะซิติก (Ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) สปอร์ของแบคทีเรียไวต่อไนซินเริ่มแรกการนำไนซินมาใช้ในอาหารก็เพื่อวัตถุประสงค์ที่จะหยุดการเจริญของสปอร์บาซิลลัสในผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดเท่านั้น เช่น เนยแข็ง และอาหารกระป๋อง แต่เมื่อใช้ไนซินกับเซลล์ของแบคทีเรียจะมีผลทำให้เกิดรูพรุนขึ้นกับเยื่อหุ้มพลาสมา ทำให้เกิดการรั่วซึมและการรั่วไหลขององค์ประกอบภายใน เซลล์ เป็นผลให้เซลล์สูญเสียความสามารถในการทำหน้าที่ไป (สุมณฑา, 2545)

2.4.4.3 การเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์อ ออกไซด์ สารนี้ทำหน้าที่เป็นตัวรับออกซิเจน เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส แต่ขาดเอนไซม์คะตาเลส แบคทีเรียแลคติกจะสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสภาวะที่มีออกซิเจนเท่านั้น เหตุที่แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แบคทีเรียแลคติกจึงทนสารนี้ได้มากกว่าแบคทีเรียอื่นๆ จากการสังเกตพบว่าในอาหารหมักบางชนิด เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสม แม้ว่าปริมาณที่เกิดขึ้นจะไม่มากนักก็ตาม เนื่องจากการหมักกรดแลคติกเกิดขึ้นในสภาวะไร้อากาศ ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เอื้อต่อการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในการหมักกรดแลคติก ขึ้นกับปริมาณของออกซิเจนที่ละลายอยู่ในซับสเตรตในตอนเริ่มต้นของการหมักเท่านั้น แต่ข้อจำกัดนี้กลับเป็นผลดี เพราะหลังจากการหมักดำเนินไปแล้ว จะไม่เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ขึ้นมาอีก การเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากเกินไปอาจจะไปยับยั้งแบคทีเรียแลคติกที่เป็นตัวการหมักได้ (สุมณฑา, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4.4 การเกิดเอธานอล

การหมักเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟในสภาวะที่ไม่มีอากาศทำให้เกิดเอธานอลขึ้น เอธานอลเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง ทำให้แบคทีเรียแลคติกได้เปรียบในการแข่งขันเหนือแบคทีเรียอื่นๆ ในการเจริญเติบโต แม้ว่าเอธานอลที่เกิดขึ้นไม่มากนักก็ตาม นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆอีก แต่มีความสำคัญน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิต (อาจถึง 100 มิลลิโมลาร์) จนมีผลทำให้ความเป็นกรด-ด่างของซับสเตรตลดลงมาอยู่ระหว่าง 3.5-4.5 แลคติกเป็นกรดที่มีราคาแพงและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมผลิตอาหารและยา (สุมณฑา, 2545)

2.4.4 ประโยชน์ของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกที่มีต่ออาหารหมักมีประโยชน์ (ปิ่นมณี, 2546-2547) ดังนี้

2.4.4.1 ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ จากการศึกษาในกลุ่มของธัญพืชพบว่าคุณค่าทาง อาหารของผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้นจากกิจกรรมการหมักที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิต เช่น ในเทมเป้จากข้าวสาลีเพราะมีจุลินทรียบ์างชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก

2.4.4.2 การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บทบาทของแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหารหมักพบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนเก็บรักษาได้นาน

2.4.4.3 แบคทีเรียกรดแลคติกมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเทอรอลในกระแสเลือด

2.4.4.4 กิจกรรมในการป้องกันมะเร็ง โดยเฉพาะ *L. acidophilus* เป็น แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่

2.4.4.5 ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

2.5 จุลินทรีย์ก่อโรค

จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร หมายถึง จุลินทรีย์เช่น แบคทีเรีย เชื้อรา ไวรัส พยาธิและโปรโตซัว ที่ก่อให้เกิดโรคในคน โดยผ่านทางอาหารหรือน้ำเป็นหลัก ซึ่งอาหารที่มีการปนเปื้อนของเซลล์จุลินทรีย์ก่อโรคหรือสารพิษ จะทำให้ผู้บริโภคเจ็บป่วย จากโรคที่เกิดจากอาหาร โดยสามารถจำแนกได้ 3 ลักษณะ ได้แก่ โรคอาหารเป็นพิษ โรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดเชื้อจากอาหารและโรคจากสารพิษ ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในร่างกายมนุษย์จุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารที่สำคัญได้ แก่ *Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Mycobacterium bovis, pathogenic E. coli group, Salmonella spp., Vibrio parahaemolyticus* และ *Vibrio cholera* ซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคจากอาหารที่มีระดับความรุนแรงน้อยจนถึงรุนแรงมากและคุกคามต่อชีวิต ดังนั้น การเข้าใจถึงสาเหตุของการเกิดโรค จะทำให้สามารถป้องกันอุบัติการณ์ของโรคที่เกิดจากอาหารได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพ

2.5.1 *E. coli*

E.coli เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal colilorm ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)

E. coli ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) หรือเรียกว่า *Enterovirulent E.coli* group (EEC group) มี 4 ประเภทคือ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)

2.5.1.1 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

เป็น *E.coli* ซึ่งทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ อาการทั่วไปคือ ท้องร่วง ปวดท้อง ไข้ต่ำ คลื่นไส้ และ อ่อนเพลีย การติดเชื้อหรือแสดงอาการต่อเมื่อได้รับเชื้อเข้าไปประมาณ 100 ล้าน ถึง 10 พันล้านเซลล์ โดยระหว่างการเจริญจะสร้างสารพิษที่ทำให้เกิดการหลั่งของของเหลว (fluid secretion) แหล่งที่พบคือน้ำที่ปนเปื้อน แล้วไปปนเปื้อนต่อในอาหาร หรือจากคนป่วยที่สัมผัสหรือปรุงอาหาร ถ้ารับเชื้อเข้าไปมาก จะมีอาการภายใน 24 ชั่วโมง ทั้งนี้การระบาดมีไม่บ่อยนัก หากมีการปฏิบัติทางสุขลักษณะที่ดี ปัจจุบันการวิเคราะห์เชื้อตัวนี้ในอาหารทำได้โดยใช้ gene probe ซึ่งใช้เวลา 3 วัน หรือใช้วิธีทดสอบสารพิษโดยทั่วไป ซึ่งใช้เวลาอย่างน้อยที่สุด 7 วัน

2.5.1.2 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

เป็น *E.coli* ชนิดที่ถือว่าเป็นเชื้อโรคที่ระบาดโดยมีความรุนแรงที่ไม่ได้เกี่ยวข้องกับการขับสารพิษทั่วไปของ EEC ชนิดอื่น EPEC แพร่ไปในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น วัวควาย และหมู มักเป็นโรคที่เป็นกับเด็ก ทำให้อุจจาระร่วงเป็นน้ำหรือเป็นเลือด คล้ายกับอาการที่เกิดจากเชื้อ *Shigella* ซึ่งเรียกว่า ชิกะทอกซิน (shigatoxin) ด้วยเช่นกัน ปริมาณเชื้อที่ก่อโรค อาจในปริมาณต่ำ dysenteriae หรือมากกว่า 106 อาหารที่พบเชื้อนี้คือ เนื้อวัวและเนื้อไก่ดิบ และจากน้ำปนเปื้อนที่นำมาชงนมให้เด็ก และหากเด็กติดเชื้อนี้ อาจทำให้เกิดการขาดน้ำ และอัตราการเสียชีวิต อาจสูงถึงร้อยละ 50 ในประเทศโลกที่สาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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

พิษที่สร้างโดย *E. coli* 0157:H7 เป็นประเภท verotoxin ที่คล้ายกับ shigatoxin ที่สร้างโดย *Shigella dysenteriae* ทำให้เกิดความเสียหายให้แก่เยื่อบุของลำไส้ ความรุนแรงคือทำให้เกิดลำไส้ใหญ่อักเสบจนตกเลือด (hemorrhagic colitis) อาการคือ ปวดท้องรุนแรง อุจจาระร่วงเป็นตอนแรก แต่กลายเป็นมูกเลือดต่อมา อาจมีอาเจียนบ้าง และมีไข้ต่ำหรือไม่มี อาหารที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ เนื้อบดหรือแฮมเบอร์เกอร์ดิบหรือไม่ค่อยสุก นอกจากนี้ยังอาจพบในหน่ออัลฟัลฟา น้ำผลไม้ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ไส้กรอกหมูปนเนื้อวัว (dry-cured salami) ผักกาดหอม เนื้อสัตว์ป่า (game meat) และน้ำนมดิบ บางครั้งคนไข้อาจมีอาการจากการมีสารในปัสสาวะปะปนในเลือด (hemolytic uremic syndrome: HUS) ที่มีลักษณะพิเศษคืออาจทำให้ไตวายถาวรได้

2.5.1.4 Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

ทำให้เกิดอาการคล้ายของโรคบิดจากเชื้อ *Shigella dysenteriae* หรือบิดมีตัว (bacillary dysentery) ทำให้ท้องร่วงโดยมีเลือดหรือมูกในอุจจาระของผู้ที่ติดเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ทำให้เกิดอาการ ประมาณ 10 เซลล์ (เท่ากับ Shigella) อาหารที่เกี่ยวข้อง ยังไม่ชัดเจน แต่มีรายงานว่าเกี่ยวกับเนื้อแฮมเบอร์เกอร์ และน้ำนมที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ เวลาฟักตัว ประมาณ 12 ถึง 72 ชั่วโมง

2.6 น้ำตาลรีดิวซ์และนอนรีดิวซ์ (Reducing and nonreducing sugars)

โมโนแซคคาไรด์และน้ำตาลไดแซคคาไรด์ส่วนใหญ่จะมีหมู่คาร์บอนิลซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย คาร์โบไฮเดรทเหล่านี้จัดเป็นกลุ่มที่เรียกว่าน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugars) ซึ่งอาจตรวจสอบปริมาณ ได้โดยอาศัยคุณสมบัติของมันที่สามารถรีดิวซ์โลหะอิออน เช่น Cu2+ หรือ Ag+ ได้ผลิตภัณฑ์ ที่ไม่ละลายน้ำ ตัวอย่างของน้ำตาลรีดิวซ์เช่น กลูโคส มอลโตส เซลโลไบโอสและแลคโตส ส่วน คาร์โบไฮเดรทที่ไม่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้เนื่องจาก อะโนเมอริกคาร์บอนทั้งคู่ถูกจับยึดไว้โดยพันธะ ไกลโคซิดิก เช่น น้ำตาลซูโครส จัดว่าเป็น Nonreducing sugars

คุณสมบัติในการรีดิวซ์โลหะอิออนนั้นนอกจากจะใช้เพื่อตรวจสอบปริมาณแล้ว ยังสามารถ ใช้ในการบอกตำแหน่ง ทิศทางของหน่วยย่อยในคาร์โบไฮเดรทโพลิเมอร์ได้ ในโพลิแซคคาไรด์ที่เป็น สายตรง (linear chain) ในหนึ่งโมเลกุลจะมีปลาย reducing end 1 หน่วย (เป็นโมโนแซคคาไรด์ที่มี อะโนเมอริกคาร์บอนที่อิสระ) และปลายที่เป็น nonreducing end 1 หน่วย ส่วนโพลีแซคคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน (branched) ในหนึ่งโมเลกุลจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีปลายที่เป็น nonreducing end มากมายตาม จำนวนกิ่งก้านที่มี แต่จะมีปลาย reducing end เพียงตำแหน่งเดียวเท่านั้น

2.6.1 น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar**)** น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) คือ น้ำตาลที่มีหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde) หรือคีโทน (ketone) ที่เป็นอิสระอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาล และถูกออกซิไดส์ได้ง่ายด้วยตัวออกซิไดส์ (oxidizing agent) อย่างอ่อน ตัวอย่างของน้ำตาลกลุ่มนี้ ได้แก่ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ทุกชนิด เช่น น้ำตาลกลูโคส (glucose) น้ำตาลกาแล็กโทส (galactose) น้ำตาลฟรักโทส (fructose)

น้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) บางชนิด เช่น น้ำตาลแล็กโทส (lactose) น้ำตาลมอลโทส (maltose)

2.6.2 Non- reducing sugar

คือน้ำตาลที่ไม่มีหมู่คาร์บอนิล (คีโทนหรือแอลดีไฮด์) อิสระอยู่ในโมเลกุล ทำให้ไม่สามารถเป็นรีดิวซิงเอเจนต์ได้ คือ น้ำตาลซูโครส(sucrose) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)

2.6.3 Degree of polymerisation (DP)

คือ จำนวนโดยประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่อยู่ในสายพอลิเมอร์ (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2553)

กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมักและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักแต่ไม่ได้เติมกรดอะซิติก

2.7 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar analysis) ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid method เป็นวิธีวิเคราะห์ที่สามารถทำได้ง่าย และราคาไม่แพง เพื่อทดสอบการมีอยู่ของหมู่คาร์บอนิล (carbonyl group, C=O) ซึ่งอยู่ในโครงสร้างของน้ำตาลรีดิวซ์ โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของหมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group) ที่มีอยู่ในโครงสร้างของน้ำตาลกลูโคสหรือหมู่คีโตนที่มีอยู่ในน้ำตาลฟรุกโทส และทำให้สาร 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) ที่ละลายอยู่ถูกรีดิวซ์ไปเป็น 3-amino, 5-nitrosalicylic acid ในสภาวะที่เป็นด่าง ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นแสดงดังสมการด้านล่าง และเนื่องจากออกซิเจนที่ละลายอยู่อาจรบกวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของน้ำตาลกลูโคส ดังนั้นการเตรียมสารละลาย DNS จึงเติมซัลไฟต์ (sulfite) ซึ่งไม่รบกวนการเกิดสีของปฏิกิริยา เพื่อดูดซับออกซิเจนที่ละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อยู่ในสารละลาย นอกจากนี้น้ำตาลรีดิวซ์แต่ละชนิดส่งผลต่อสีปฏิกิริยาที่กัน จึงจำเป็นต้องทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลแต่ละชนิดไว้ (Duboiset al, 1956; Saha and Brewer, 1994)

Aldehyde group —oxidation→ carboxyl group

3, 5-dinitrosalicylic acid —reduction→ 3-amino, 5-nitrosalicylic acid

2.8 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar analysis) ด้วยวิธี Pheno-sulfuric acid method

การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric acid method เป็นการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่ได้รับความนิยมเนื่องจากสามารถวิเคราะห์น้ำตาลที่เป็น soluble sugars,oligomeric และ polymeric sugas ในเวลาเดียวกัน เนื่องจากกรดซัลฟริกเข้มข้นที่ใช้ในการวิเคราะห์ จะทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลทั้งที่เป็น oligomeric และ polymeric sugas ให้กลายเป็นน้ำตาลโมลกุลเดี่ขว (mnomn) โดขสีของปฏิกริขาที่เกิดขึ้นจะสัมพันธ์กันกับโครงสร้างโมเลกุลของน้ำตาลที่อในสารสกัด จากนั้นจึงคำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสารสกัดโคขการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานซึ่งส่วนใหญ่จะใช้เป็นน้ำตาลซูโครสหรือกลูโคส (Duboiset al, 1956; Saha and Brewer, 1994)

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยเรื่องการเปลี่ยนแปลงสารอาหารของธัญพืชหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ของวรัมพร และคณะ (2010) การศึกษาการเพิ่มปริมาณสารอาหารของถั่วเหลืองและงาดำโดยใช้กระบวนการหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum* ที่ อุณหภูมิการหมัก 30°C ระยะเวลาการหมัก 0, 12, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง พบว่า ถั่วเหลืองหมักมีปริมาณโปรตีน เพิ่มขึ้นโดยมีปริมาณสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 43.49 ที่ระยะเวลาการหมัก 24 ชั่วโมง และงาดำหมักมีปริมาณโปรตีนสูงสุดที่ ระยะเวลาการหมักที่ 36 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 19.51 ถั่วเหลืองหมักและงาดำหมักที่ระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง มีปริมาณไขมันสูงสุดเท่ากับ ร้อยละ 16.19 และ ร้อยละ 31.56 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่างาดำและถั่วเหลืองที่ผ่าน กระบวนการหมัก มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตลดลง และงาดำยังมีปริมาณเยื่อใยสูงขึ้นเมื่อหมักที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง แต่ถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักมีปริมาณเยื่อใยลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากงานวิจัยของ Bao *et al*. (2011) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่องการศึกษา *L. plantarum* ในสภาวะจำลองซึ่งเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติก และลักษณะการหมักในนมถั่วเหลือง โดยนำ *L. plantarum* 102 สายพันธุ์มาทดลอง โดยเชื้อทั้งหมดแยกได้จากผลิตภัณฑ์นม ถูกนำมาทดลองเพื่อศึกษาคุณสมบัติของโปรไบโอติกในสภาวะจำลองรวมไปถึงความทนทานต่อกรดและน้ำดี, การเกาะกลุ่มและการต้านเชื้อแบคทีเรีย ในจำนวนนี้มี 12 สายพันธุ์ที่สามารถทนต่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหารจำลองได้สูง (pH 2.5, 3 ชั่วโมงของการบ่ม) ซึ่ง 8 ใน 12 สายพันธุ์นี้สามารถทนต่อเกลือน้ำดีได้ดี ทั้งหมด 12 สายพันธุ์ที่เลือกพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกาะกลุ่มกันเองที่สูงหลังจากถูกบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 ชั่วโมงและ 9 ใน 12 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคในลำไส้ได้5ชนิดอย่างมีนัยสำคัญ *L. plantarum* 6 สายพันธุ์ (IMAU10120, IMAU10156, IMAU40126, IMAU70004, IMAU60042, IMAU60171) ถูกเลือกเพื่อไปทดลองต่อเพื่อศึกษาลักษณะการหมัก, คุณภาพทางประสาทสัมผัสและจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการหมักนมถั่วเหลืองและติดตามการเก็บรักษานมถั่วเหลือง 28 วัน 6 สายพันธุ์นี้มีความสามารถในการผลิตกรดที่อุณหภูมิเย็นได้ ตัวอย่างนมถั่วเหลืองที่หมักไปทั้งหมดพบว่ามีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตสูงกว่า log 8.45 CFU/ml และในระหว่างการเก็บรักษามีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตปริมาณคงที่ โดยขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของโปรไบโอติกและลักษณะการหมัก โดยพบว่า *L. plantarum* สายพันธุ์ IMAU10120 เป็นโปรไบโอติกที่ดีที่สุดใน 6 สายพันธุ์สำหรับการผลิตนมถั่วเหลืองหมัก

จากงานวิจัยของ Wang *et al*. (2014) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพเงื่อนไขของกระบวนการหมักกากถั่วเหลืองสำหรับการหมักแบบอาหารแข็งและผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการย่อยสารอาหารของสุกรหลังหย่านม โดยการศึกษาในครั้งนี้ ได้ศึกษากากถั่วเหลืองหมักโดยใช้กระบวนการที่แตกต่างกันโดยมีเงื่อนไขความชื้นเริ่มต้น, อุณหภูมิ,ระยะเวลาการบ่ม, การเติมน้ำตาลและการเติมโปรติเอสที่เป็นกลางต่ออัตราส่วนกรดโปรติเอส หลังจากการหมักจะกำหนด pH และปริมาณโปรตีนหยาบ, กรดแลคติก, ไกลซีนและเบต้า-คอนไกลซินินในการหมักกากถั่วเหลือง โดยจากผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิบ่มที่เหมาะสม สำหรับผลิตกากถั่วเหลืองหมัก ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีความชื้นเริ่มต้นมากขึ้น (60%) และการเสริมเอนไซม์โปรติเอส (0.3%) สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการได้ สัดส่วนของโปรตีนที่เป็นกลางกับกรดโปรติเอสคือ 3 : 1 บ่มเป็นเวลา 5 วันก็เพียงพอสำหรับการหมักกากถั่วเหลืองที่ดี การเติมน้ำตาลทรายแดงไม่ส่งผลกระทบต่อไกลซีนและปริมาณเบต้า-คอนไกลซินิน โดยการทดลองมีการสุ่ม 2 กลุ่มคือควบคุมอาหารที่มีกากถั่วเหลือง 24% และอาหารที่มีการทดสอบกับ 6%กากถั่วเหลืองหมัก จากผลการทดลองสรุปได้ว่าความชื้นเริ่มต้นอุณหภูมิการเติมโปรติเอสผสมจากการทดลองพบว่าความชื้นเริ่มต้นที่ 40 %w/w ที่อุณหภูมิการบ่ม 40 องศาเซลเซียสเสริมด้วยส่วนผสมโปรติเอส 0.3 %w/w ในอัตราส่วน 3 : 1 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์มีการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์มาใช้ในการย่อยร่วมกับปริมาณโปรติเอสที่เสริมเข้าได้อย่างเหมาะสมทำให้ไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินลดลง เมื่อให้ลูกสุกรกินพบว่าอาหารที่มีกากถั่วเหลืองหมัก 6 % ทำให้น้ำหนักของลูกสุกรเพิ่มขึ้นบ่งบอกถึงการย่อยของลูกสุกรว่ามีย่อยไกลซินินและเบต้า-คอนไกลซินินได้ดี ไม่ส่งผลต่อการย่อยของลูกสุกรและความเข้มข้นยูเรียไนโตรเจนในพลาสมาของลูกสุกรนั้นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

จากการศึกษาของธเนศ (2557) ได้ทำการศึกษาเรื่อง ผลการใช้โปรไบโอติกในลูกสุกรหย่านม โดยทำการส่งเสริมการทำงานของลำไส้การให้โปรไบโอติกเสริมร่วมกับอาหารของสุกรทำให้สุกรมีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น การให้โปรไบโอติกเป็นอาหารเสริมแก่ลูกสุกรและสุกรที่หย่านมแล้วนั้น เกิดจากการที่โปรไบโอติกมีส่วนช่วยในการทำให้ความสัมพันธ์ระหว่างเซลล์ของโฮสต์ทำงานได้ดีขึ้น จึงส่งผลให้ การรุกล้ำ เข้าไปในเซลล์ของโฮสต์โดยเชื้อก่อโรคนั้นลดลง การใช้โปรไบโอติกในสุกร มี 2 วิธี คือ การให้อาหารหมักชนิดเหลวและการป้อนเชื้อโดยตรง จากการใช้โปรไบโอติกในระดับ 0.05-0.2 % พบว่าลูกสุกรหย่านมใช้โปรไบโอติกที่ระดับ 0.2 % ทำให้ลูกสุกรหย่านมมีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารไปเป็นน้ำหนัก เป็นการเพิ่มน้ำหนักตัวดีที่สุด การใช้โปรไบโอติกในอาหารลูกสุกรจึง เป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มสมรรถภาพการเจริญเติบโต

จากการศึกษาของณัฐกานต์ และภัคจิรา (2559) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่องการศึกษากากถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่นำมาใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์สำหรับสุกรซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการผลิตนมถั่วเหลือง โดยในกากถั่วเหลืองจะมีโภชนาการต่างๆที่สำคัญอยู่สูง เช่น คาร์โบไฮเดรต แต่คาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลืองนั้นมีโมเลกุลใหญ่ คือโพลิแซคคาไรด์ และโอลิโกแซคคาไรด์ แต่เนื่องจากโพลิแซคคาไรด์และโอลิโกแซคคาไรด์นั้นเป็นสารต้านทางโภชนาการ จึงมีการนำกากถั่วเหลืองสดและกากถั่วเหลืองแห้ง นำมาผ่านกระบวนการหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum N11* และ *L. plantarum TISTR 862* เป็นเวลา 0, 8, 24, 40, 56 และ 72 ชั่วโมง และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS จากผลการทดลองพบว่าน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์หลังจากผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *L. plantarum TISTR 862* เป็นเวลา 24 ชั่วโมงนั้น มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 1.815 และ 0.397 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าดีกรีโพลิเมอไรเซชัน (Degree of polymerization) ที่ได้จากการสกัดคาร์โบไฮเดรตจากกากถั่วเหลืองแห้งที่หมักด้วยเชื้อ *L. plantarum TISTR 862* นั้นสามารถช่วยย่อยสลายน้ำตาลทั้งหมดให้กลายเป็นน้ำตาลโมเมกุลเดี่ยวได้และทำการศึกษาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งก่อนและหลังกระบวนการหมัก โดยวิธีproximate analysis จากการทดลองพบว่ากากถั่วเหลืองแห้งและกากถั่วเหลืองสดก่อนกระบวนการหมักมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักกากถั่วเหลือง ซึ่งผลของปริมาณน้ำตาลและผลของคาร์โบไฮเดรตมีความสอดคล้องกันอย่างชัดเจน

จากการศึกษาของ Yuan *et al*. (2017) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่อง กากถั่วเหลืองหมักช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเติบโตและความสามารถในการย่อยสารอาหารของจุลินทรีย์ในลูกสุกร เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของกากถั่วเหลือง (SBM) จึงใช้จุลินทรีย์ 3 ชนิดในการหมัก SBM ผ่านการออกแบบ และการวัดพารามิเตอร์ของเปปไทด์ถั่วเหลืองและปริมาณสารยับยั้งเอนไซม์ในกากถั่วเหลืองหมัก (FSBM) คาดว่าสัดส่วนจุลินทรีย์ที่ดีที่สุดของ *Bacillus subtilis, Hansenula anomala*และ *Lactobacillus casei* คือ 2: 1: 2 สำหรับการหมัก SBM โดยจากผลการทดลองให้อาหารลูกสุกรต่อไปนี้พบว่า 10% FSBM ที่ใช้ทดแทน SBM ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการเติบโตของลูกสุกรที่ยังไม่หย่านม (อายุ 7-28 วัน) (P> 0.05) แต่ลูกสุกรที่หย่านม (อายุ 28-38 วัน) ที่เลี้ยงด้วย 10% FSBM พบว่ามีอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน (ADG) และอัตราส่วนการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อหรือ อัตราการแลกเนื้อ (FCR) เมื่อเทียบกับที่ไม่ได้เลี้ยงด้วย FSBM ลูกสุกร (อายุ 38-68 วัน) ที่ได้รับอาหารเสริมด้วย FSBM และโปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น (SBPC) ที่ 3.75% และ 7.5% มีความสามารถในการย่อยสารอาหารได้ดีขึ้นตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์, ปริมาณ Lactic acid bacteriaรวมถึง ปริมาณ *E. coli* ในอุจจาระมีจำนวนที่ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า FSBM มีผลในเชิงบวกต่อการย่อยได้ของสารอาหารและจุลินทรีย์ในอุจจาระสำหรับลูกสุกรจากผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าสัดส่วนจุลินทรีย์ที่เหมาะสมของ *B. subtilis, H. anomala* และ *L. casei* คือ 2: 1: 2 สามารถเพิ่มปริมาณเปปไทด์ถั่วเหลืองและคุณค่าทางโภชนาการของ SBM ได้ และลดปัจจัยสารต่อต้านทางโภชนาการ (เช่น สารยับยั้ง trypsin และโปรตีนแอนติเจน)ใน SBM การทดลองให้อาหารลูกสุกรดูดนมและหย่านมแสดงให้เห็นว่า FSBM สามารถทดแทนโปรตีนในพลาสมและSBPC ในอาหารสำหรับการผลิตให้ลูกสุกรและเพิ่มกำไรทางเศรษฐกิจได้

จากงานวิจัยของ ขวัญชัย (2550) ได้ศึกษาวิจัยหัวข้อเรื่อง ผลของกากถั่วเหลืองหมักต่อการพัฒนาของวิลไลปละสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหย่านม โดยนำกากถั่วเหลืองมาหมักด้วยจุลินทรีย์เพื่อย่อยโครงสร้างที่มีความซับซ้อน ให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงหรืออยู่ในรูปกรดอะมิโนอิสระมากขึ้น โดยนำมาทดลองในลูกสุกรพันธุ์ลูกผสม (Large White x Landrace x Duroc) เพศผู้ 90 ตัว และเพศเมีย 90 ตัวหย่านมอายุ 21 วัน น้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 6.95 กิโลกรัม จำนวน 180 ตัว โดยแบ่งการทดลองเป็น 5 กลุ่มทดลอง คือ สูตรอาหารฟาร์มปกติ (T1) สูตรอาหารฟาร์มปกติปรับใช้กากถั่วเหลือง 10% (T2) สูตรอาหารฟาร์มปกติปรับใช้กากถั่วเหลืองหมักนำเข้า 10% (T3) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรอาหารฟาร์มปกติปรับใช้กากถั่วเหลืองหมักนำเข้า 10%และ 15% (T4 และ T5) แต่ละ Treatment มี 9 ซ้ำๆ ละ 4 ตัว ใช้เวลาทดลอง 6 สัปดาห์ โดยศึกษาความสูงและพื้นที่ผิวของวิลไล สมรรถภาพการผลิตของลูกสุกร จากการทดลองพบว่ากากถั่วเหลืองหมักมีปริมาณโปรตันรวม และไขมันโดยรวมมากกว่ากากถั่วเหลืองปกติ หลังสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 1 ของการทดลอง พบว่าความสูงของวิลไลเฉลี่ยของอาหารกลุ่มที่ T4 (474.70 µm) มีความสูงกว่ากลุ่ม T1.T2,T3 และ T5 (382.67 305.85 411.20 และ 435.85 µm ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) และพื้นที่ผิววิลไลเฉลี่ยกลุ่ม T3,T4 และ T5 (0.050 0.060 และ 0.053 mm^2 ตามลำดับ) มากว่ากลุ่ม T1 และ T2 (0.040 และ 0.025 mm^2 ตามลำดับที่ระดับ P<0.05) สัปดาห์ที่ 2 กลุ่ม T4 (493.50 µm) มีความสูงวิลไลเฉลี่ยมากกว่า T1,T2,T3 และ T5 (422.88 324.48 438.25 และ 404.12 µm ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) และพื้นที่ผิววิลไลเฉลี่ยของกลุ่ม T3 และ T4 (0.057 และ 0.061 mm^2) มากกว่ากลุ่ม T1,T2 และ T5 (0.050 และ 0.039 และ 0.051 mm^2 ตามลำดับที่ระดับ P<0.05) ในสัปดาห์ที่ 3 ความสูงวิลไลเฉลี่ยกลุ่ม T3,T4 และ T5 (450.55 482.41 และ 463.77 µm ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) มากกว่ากลุ่ม T1 และ T2 (428.24 และ 418.20 µm ตามลำดับที่ระดับ P<0.05) พื้นที่ผิววิลไลเฉลี่ยของกลุ่ม T1,T3,T4 และ T5 (0.052 0.055 0.061 และ 0.059 mm^2 ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) มากกว่ากลุ่ม T2 (0.024 mm^2 ที่ระดับ P<0.05) สัปดาห์ที่ 4 ความสูงเฉลี่ยของวิลไลกลุ่มที่ T4 (536.59 µm) มากกว่ากลุ่ม T1,T2,T3 และ T5 (461.97 417.32 487.49 และ 454.53 µm ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) พื้นที่ผิววิลไลเฉลี่ยกลุ่ม T1,T3,T4 และ T5 (0.052 0.055 0.061 และ 0.059 mm^2 ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05) มากกว่ากลุ่ม T2 (0.021 mm^2 ที่ระดับ P<0.05) ค่าเฉลี่ยตลอดการทดลองพบว่า T4 มีแนวโน้มที่ให้ค่าความสูงวิลไลเฉลี่ย (503.79 µm) และพื้นที่ผิววิลไลเฉลี่ย (0.071 mm^2) มากที่สุดในด้านสมรรถภาพการผลิต พบว่า T1,T3T4 และ T5 มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น (17.14 17.89 16.64 และ 17.20 กิโลกรัม ตามลำดับ) มากกว่า T2 (16.17 กิโลกรัม) อย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05) อัตราแลกเนื้อ (F:G) ของ T3 (1.71) มีค่าต่ำกว่า T1,T2,T4 และ T5 อย่างมีนัยสำคัญ (1.84 1.90 1.87 และ 1.81 ตามลำดับ ที่ระดับ P<0.05)

จากงานวิจัยของ Quintana *et al*. (2017) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่องกากถั่วเหลือง : เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและสามารถรักษาเสถียรภาพของ *L. plantarum* ได้โดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยในระหว่างการเก็บรักษา โดยการศึกษาในครั้งนี้ต้องการจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกากถั่วเหลือง, กากถั่วเหลืองที่ดึงไขมันออกและอาหารเลี้ยงเชื้อMRSแบบเหลว เพื่อดูประสิทธิภาพของกากถั่วเหลืองในการเป็นแหล่งอาหารและเป็นที่ยึดเกาะของเชื้อ *L. plantarum CIDCA83114* โดยการนำกากถั่วเหลือง กากถั่วเหลืองที่ดึงไขมันออกและอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS แบบเหลวมาทำให้แห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-drying) และวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-drying) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของทั้ง 2 วิธี จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำตัวอย่างที่ทำแห้งแล้วมาใส่ในซิลิก้าเจลแล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา90วัน โดยจะตรวจติดตามจำนวนเชื้อ *L. plantarum CIDCA83114* จากวิธีการนับเชื้อบนเพลท (เพาะเลี้ยงเชื้อที่37 °Cเป็นเวลา48ชม.) จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *L. plantarum CIDCA83114* ที่เก็บรักษาอยู่ในกากถั่วเหลือง, กากถั่วเหลืองที่ดึงไขมันออกและอาหารเลี้ยงเชื้อMRSแบบเหลว มีการเจริญของเชื้อในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน จึงสามารถสรุปได้ว่ากากถั่วเหลืองมีค่าทางโภชนาการที่เพียงพอและสามารถใช้แทน MRS ได้ และเมื่อทำแห้งยังสามารถเก็บรักษาได้นาน เหมาะที่นำมาทำเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้อาหารคนและอาหารสัตว์ โดยยังคงเชื้อจุลินทรีย์ไว้ได้และเมื่อเปรียบเทียบการทำแห้งทั้ง2วิธีพบว่า วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งให้ผลที่ดีที่สุด แต่เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติแล้วให้ผลไม่ต่างกันมาก และวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีที่ถูกกว่าอีกวิธี

จากงานวิจัยของ Sulagna *et al.* (2018) ได้ศึกษาวิจัยในหัวข้อเรื่องการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนาการของอาหารเพื่อสุขภาพ (โอการะ) หลังจากการหมักแบบของแข็ง (Solid state fermentation) ด้วยโพรไบโอติกแ โดยนำเชื้อ*Rhizopus oligosporus* และ*L. plantarum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายที่ได้รับการรับรองจาก FDA มาหมักกากถั่วเหลือง ซึ่งใช้ในการศึกษานี้ได้นำกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อทั้ง 2 ชนิดมาศึกษาองค์ประกอบการวิเคราะห์เมแทบอไลต์ (โดยการวิเคราะห์วิธี GC-MS) และกิจกรรมของสารต้านออกซิเดชัน (โดยการทดสอบวิธีDPPH) โดยแสดงตารางการวิเคราะห์องค์ประกอบของโอการะ(กากถั่วเหลือง) มีโปรตีน 25.4-28.4 กรัม, ไขมัน 9.3-10.9 กรัม, ใยอาหาร 52.8-58.1 กรัม, เถ้า 3.0-3.7 กรัมและคาร์โบไฮเดรต 3.8-5.3 กรัม ต่อกากถั่วเหลืองแห้ง 100 กรัม โดยการวิเคราะห์องค์เมแทบอไลต์ด้วยวิธี GC-MS สามารถวัดสารเมแทบอไลต์ได้ทั้งหมด 48 ชนิด โดยจัดกลุ่มได้ออกเป็น 7 ประเภทหลักคือกรดอินทรีย์ กรดอะมิโน กรดอนินทรีย์ กรดไขมัน คาร์โบไฮเดรต แอลกอฮอล์ และอื่นๆ โดยผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการหมักกากถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์ โดย *R. Oligosporus* และ *L. plantarum* ให้ผลของสารเมแทบอไลต์โดยรวมเพิ่มขึ้นดีกว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก คาดว่าเกิดจากจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไปในกากถั่วเหลืองหมักผลิตเอนไซม์ไฮโดรไลติกที่สามารถสลายตัวโมเลกุลที่มีความซับซ้อนในกากถั่วเหลืองให้เป็นองค์ประกอบสารที่มีโมเลกุลเล็กลงได้ ในขณะที่กรดไฟติกและสารต้านโภชนาการในกากถั่วเหลืองหมักกลับลดลงและยังพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นหลังจากการหมักกากถั่วเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของ ชูศักดิ์พูลมา และคณะ(2562) โดยมีหัวข้อเรื่องอิทธิพลของการใช้กากถั่วเหลืองหมักต่ออาการท้องเสียและประสิทธิภาพการผลิตในลูกสุกร ได้ศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองหมักเป็นวัตถุดิบในสูตรอาหารลูกสุกรเพื่อเพิ่ม ประสิทธิภาพการผลิตโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ซึ่งประกอบด้วยสิ่งทดลอง (treatment) เป็นอาหารเสริมกากถั่วเหลืองหมักในระดับ 0, 50และ100% ในสูตรอาหาร อาหารแต่ละสูตรใช้เลี้ยงสุกร 3 สายเลือด (ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ x ดูร็อค) จำนวน 4 คอก คอกละ 2 ตัว เป็น เพศผู้และเพศเมียอย่างละ 1 ตัว จำนวนสุกรทั้งหมด 24 ตัว โดยมีน้ำหนักเริ่มทดลองเฉลี่ย 9.65±0.07 กิโลกรัม รวมสุกรทั้งหมด 24 ตัว ระยะเวลาทดลองจำนวน 28 วัน ผลการทดลองพบว่า สุกรที่ได้รับอาหารเสริมกากถั่วเหลืองหมักที่100% และ 50% ในสูตรอาหารมีอัตราการเจริญเติบโต (ADG) เพิ่มสูงกว่าสูตรกากถั่วเหลืองปกติ(0.505±0.013, 0.441±0.012 ,0.409±0.016 (P<0.05) ส่วนอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักในสุกรที่ได้รับสูตรอาหารกากถั่วเหลืองปกติ มีค่าสูงกว่าสูตรอาหารกากถั่วเหลืองหมัก50% และสูตรอาหารกากถั่วเหลืองหมัก 100% มีค่าต่ำสุด (2.14±0.09, 2.01±0.05, 1.77±0.40(P<0.05) ดังนั้นการใช้กากถั่วเหลืองหมักในสูตรอาหารสามารถเพิ่มสมรรถภาพการผลิตสุกรได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 กระบอกตวงขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Cylinder)

3.1.2 บีกเกอร์ขนาด 250,500,600 และ 1000 มิลลิลิตร (Beaker)

3.1.3 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Flask)

3.1.4 ไมโครปิเปต (Micropiprtte)

3.1.5 ขวดปรับปริมาตรขนาด 100,500 และ 1000 มิลลิลิตร (Volume)

3.1.6 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.1.7 เครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (Evaporator)

3.1.8 เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (Centrifuge)

3.1.9 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave)

3.1.10 เครื่องวัดค่ากรด-ด่าง (pH Meter)

3.1.11 เครื่องตีปั่น (Stomacher)

3.1.12 ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar flow Clean Bench)

3.1.13 กล่องพลาสติกพร้อมฝาปิด 2 ใบ

3.2 สารเคมี

3, 5- Dinitrosalicylic acid (DNS), Sigma, China

Agar, TMMEDIA, India

Beef extract, Scharlau, Barcelona

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Calcium carbonate, Industry, China

EMB Agar, Levine, HiMedia, India

Glucose, CARLO EBRA, Italy

MRS agar, HiMedia, India

NaCl, CARLO, Italy

Phenol, Merck, Germany

Sulfuric acid, Sigma, China

Sodium hydroxide, Ajax Finechem, Australia

Sodium Potassium Tartrate, AR, Thailand

Sulfuric acid, CARLO EBRA, Italy

Tryptone, Merck, Germany

Yeast extract, Scharlau, Spain

Acetone, MITSUL, Singapore

Boric acid, AR, United State of America 17

Copper Sulfate, AR, Belgium

Hydrochloric acid, Fluka, Netherlands

Methyl green, Ajax Finechem, Australia

Methyl red, Ajax Finechem, Australia

Methylene Blue, Ajax Finechem, Australia

n- Octanal, Sigma, China

Petroleum ether, Merck, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Potassium sulfate, AR, Belgium

Sodium hydroxide, Merck, Germany

Sulfuric acid, CARLO EBRA, Italy

3.3 วิธีการดำเนินการ

3.3.1 การเตรียมกากถั่วเหลือง

นำกากถั่วมาแบ่งเป็น 6 การทดลอง โดยใช้การทดลองละ 500 กรัม นำมาปรับพีเอชกับกรดอะซิติก 150 มิลลิลิตร

การทดลองที่ 1 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 1.5% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะที่มีอากาศอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

การทดลองที่ 2 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 2% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะที่มีอากาศอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

การทดลองที่ 3 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 2.5% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะที่มีอากาศอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

การทดลองที่ 4 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 1.5% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะ facultative anaerobe อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

การทดลองที่ 5 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 2% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะ facultative anaerobe อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

การทดลองที่ 6 นำกากถั่วเหลืองมาปรับกรดอะซิติก 2.5% (v/v) 150 มิลลิลิตร พ่นลงบนกากถั่วเหลือง นำไปหมักในสภาวะ facultative anaerobe อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียล

นำการทดลองทั้งหมดไปหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างนำไปวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

นำตัวอย่างที่ทำการหมักครบ 2 วัน มา 25 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 225 มิลลิลิตรจากนั้นนำไปเข้าเครื่องตีปั่น (Stomacher) เป็นเวลา 1 นาที

3.3.2.1 ตรวจหาเชื้อ Lactic acid bacteria นำตัวอย่างมา1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร MRS agar ทำการ pour plate บ่มในสภาวะไม่มีอากาศอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 วัน

3.3.2.2 ตรวจหาเชื้อ *E.coli* นำตัวอย่างมา 0.1 มิลลิลิตร ลงในอาหาร EMB agar ทำการ spread plate บ่มในสภาวะไม่มีอากาศ เป็นเวลา 2 วัน

3.4 การวิเคราะห์ทางด้านกายภาพ

3.4.1 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดเบส

เจือจางตัวอย่างกากถั่วเหลืองด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วน 5:10 ก่อนทำการวัดค่าความเป็นกรดเบส ด้วยเครื่อง pH meter

3.5 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

3.5.1 วิเคราะห์จุลินทรีย์กลุ่มแลคติก

ชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลือง 25 กรัม ลงในถุงตีปั่น ใส่สารละลายสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ลงไป 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีปั่น 20-30 วินาที ดูดเชื้อมา 1 มิลลิตร นำมาเลี้ยงในอาหาร MRS Agar ด้วยวิธี pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 วัน เก็บ ตัวอย่างมานับโคโลนีในหน่วย CFU/ml

3.5.2 วิเคราะห์จุลินทรีย์กลุ่มก่อโรค

ชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลือง 25 กรัม ลงในถุงตีปั่น ใส่สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ลงไป 225 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องตีปั่น 20-30 วินาที ดูดเชื้อมา 0.1 มิลลิตรนำมาเลี้ยงในอาหารEMB Agar ด้วยวิธี spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 วัน เก็บตัวอย่างมานับโคโลนีในหน่วย CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.6.1 สกัดคาร์โบไฮเดรต

นำตัวอย่างกากถั่วเหลืองที่หมักครบ 7 วัน ผสมกับตัวทำละลายคือน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:2 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนที่สกัดได้ไปทำตะกอนออกโดยการนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10000 rpm เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนใสทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารสุญญากาศ (Evaporator) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี ฟีนอล-กรดซัลฟิวริกและวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ด้วยวิธี 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก

3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

โดยใช้วิธี ฟีนอล-กรดซัลฟิวริก นำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง จากนั้นผสมสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลายฟีนอล 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เมื่อผสมเข้ากันแล้วเติมกรดซัลฟิวริก ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที จะได้สารละลายที่เป็นสีส้มหรือสีเหลือง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณของน้ำตาลทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

โดยใช้วิธี 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก นำสารสกัดที่ได้มาเจือจาง จากนั้นผสมสารสกัดปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เมื่อผสมเข้ากันแล้วนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณของน้ำตาลรีดิซ์เทียบกับกราฟมาตรฐานกลูโคส

3.6.4 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (moisture cotent) (AOAC, 2000)

วิเคราะห์ปริมาณความชื้นโดยวิธี AOAC (2000) โดยทำการชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างกากถั่วเหลืองด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในภาชนะอะลูมิเนียมฝาปิด นำเข้าไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง (จนน้ำหนักคงที่) ทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก ทำการคำนวณหาความชื้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5 วิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

วิเคราะห์หาปริมาณเถ้าของกากถั่วเหลืองโดยวิธี AOAC (2000) นำถ้วยกระเบื้อง (cruciber) ไปเผาเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงที่เตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียล ปิดเตาทิ้งไว้ข้ามคืน นำมาใส่โถดูดความชื้นชั่งน้ำหนัก (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองใส่ลงในถ้วยกระเบื้อง มา 2-3 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) นำไปเผาบนเตาเผาไฟฟ้า จนควันหมด นำใส่เตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง ปิดเตาทิ้งไว้ข้ามคิน นำมาใส่โถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณเถ้า

3.6.6 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาลห์ (AOAC, 2000)

วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของกากถั่วเหลืองโดยวิธี AOAC (2000) โดยชั่งตัวอย่างกากถั่วเหลืองมาประมาณ 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ลงในหลอดย่อยโปรตีนที่มีลูกแก้วและตัวเร่งปฏิกิริยา (1:8 ของ $CuSO_4/K_2SO_4$) 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกลงไป 25 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องย่อยโปรตีน เมื่อย่อยเสร็จรอจนเย็น ทำการกลั่นโปรตีน โดยการนำหลอดที่ย่อยเสร็จใส่ในเครื่องกลั่น นำไปไทเทรตด้วยไฮโดคลอดริก 0.1 N โดยมี methyl red และ methylene blue เป็นอินดิเคเตอร์ สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วงอมชมพู บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริก 0.1 N ที่ใช้ไปและคำนวณปริมาณโปรตีน

3.6.7 วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

วิเคราะห์หาปริมาณไขมันของกากถั่วเหลืองโดยวิธี AOAC (2000) โดยชั่งตัวอย่างที่ผ่านการไล่ความชื้นแล้วมาประมาณ 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ลงบนกระดาษกรองทำการพับแล้วใส่ลงในหลอดกระดาษกรองสำหรับการสกัด (Extraction Thimbles) ใส่ตัวล็อคลงในบีกเกอร์ไขมันแล้วนำหลอดกระดาษกรองสำหรับการสกัดที่มีตัวอย่างใส่ลงไป นำปิโตเลียมอีทเทอร์ใส่ลงไป 150 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องสกัดไขมัน เมื่อสกัดเสร็จ นำบีกเกอร์ไขมันไปอบที่อุณหภูมิ105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน และคำนวณปริมาณไขมัน

3.6.8 วิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร (crude fiber, CF)

นำถ้วยเผาแก้วชนิดทนความร้อนมาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง ปิดเตาเผาทิ้งไว้ข้ามคืน หลังจากนั้นใส่ลงในโถดูดความชื้นให้เย็น นำมาชั่งหาน้ำหนัก(บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการไล่ไขมันมาแล้ว มาประมาณ 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักที่แน่นอนที่ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ลงในถ้วยเผาแก้วชนิดทนความร้อนแล้วนำเข้าเครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร เติมกรดซัลฟูริกที่อุ่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้น 1.25% ปริมาณ 150 มิลลิลิตร หยด antifrom ลงไป 2-3 หยด ต้ม 30 นาที กรองให้เหลือแค่กาก นำน้ำกลั่นต้มมาล้างกรดซัลฟูริกออกให้หมด จากนั้นทำการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 1.25% ปริมาณ 150 มิลลิลิตร หยด antifrom 2-3 หยด ต้ม 30 นาที กรองให้เหลือแค่กาก นำน้ำกลั่นต้มมาล้างโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกให้หมด จากนั้นทำการเติมอะซิโตนลงไปประมาณ 25 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง นำไปอบที่เตาอบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นโดยใส่ลงในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปเผาที่เตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียล อย่างน้อย 3 ชั่วโมง ทำให้เย็นโดยใส่ลงในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก คำนวณปริมาณใยอาหาร โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ IBMSPSS ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์การทดลอง

4.1 ผลของการใช้กรดอะซิคติกที่ความเข้มข้นและสภาวะที่แตกต่างกัน

4.1.1 ความเป็นกรดเบส (pH)

คุณสมบัติทางกายภาพของกากถั่วเหลืองที่ใช้คามเข้มข้นและสภาวะในการหมักที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1.1 แสดงให้เห็นว่ากากถั่วเหลืองหมักแบบไม่ปรับกรดไปจนถึงกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับกรด 1.5%, 2%, 2.5% (v/v) ทั้ง 2 สภาวะ มีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น (ค่าpHลดลง) ตามความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ใส่ลงไปในกากถั่วเหลืองและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อจุลินทรีย์ พบว่ากากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศมีค่า pH ที่ต่ำกว่า (เป็นกรดมากกว่า) กากถั่วเหลืองที่หมักแบบ facultative anaerobe โดยสรุปได้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศผลิตกรดได้มากกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่อยู่ในกากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ และพบว่าค่า pH จากตาราง Anova โดยใช้วิธี one-way anova ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.1.1 ค่าพีเอชที่วัดได้จากตัวอย่างกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

สภาวะ	ความเข้มข้นกรดอะซิติก (%)	pH
กากถั่วเหลืองไม่หมัก	-	5.66
มีอากาศ	1.5%	4.68 ± 0.11^{d}
	2%	4.57 ± 0.17^{cd}
	2.5%	4.36 ± 0.19^{a}
facultative anaerobe	1.5%	4.61 ± 0.32^{cd}
	2%	4.53 ± 1.19^{bc}
	2.5%	4.43 ± 0.31^{ab}

หมายเหตุ : a-d ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(ค่าp < 0.05) โปรแกรม IBMSPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

จากผลการทดลองนำกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมักมาวิเคราะห์หาค่าองค์ประกอบหลักทางเคมี โดยวิธี Proximate analysis ซึ่งประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน เถ้า ความชื้น ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต โดยใช้การวิเคราะห์สถิติ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าโปรตีน เถ้า และใยอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่ไขมัน และความชื้น พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq0.05$) ดังแสดงในตาราง 4.1.2 และพบว่าค่าเปอร์เซนต์ความชื้นมีค่าที่สูงมาก ส่งผลให้ไม่สามารถคำนวณหาเปอร์เซนต์ของคาร์โบไฮเดรตได้เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีอบลมร้อนเพื่อหาความชื้น วิธีการอบแห้งที่ให้ผลถูกต้องจะเป็นการหาปริมาณน้ำจากน้ำหนักที่หายไป โดยการระเหยของน้ำเท่านั้น แต่ในทางปฏิบัติสารอินทรีย์อื่นๆที่ระเหยได้จะระเหยออกไปด้วยและอาจทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบอินทรีย์บางชนิดได้ ถ้าอบด้วยความร้อนอุณหภูมิที่สูงและใช้เวลานานเกินไป (นิธิยา, 2554)

ตารางที่ 4.1.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมัก

สภาวะ	เปอร์เซนต์กรดอะซิติก	% โปรตีน	% ไขมัน	% เถ้า	% ความชื้น	% ใยอาหาร	% คาร์โบไฮเดรต
Control(กากถั่วเหลืองไม่หมัก)	-	4.82±0.03^{a}	1.89	0.64±0.06^{a}	80.42±0.01^{a}	17.84	-5.61
มีอากาศ	1.5%	4.07±0.68^{a}	6.55±2.09^{b}	0.51±0.11^{a}	87.30±0.47^{e}	19.20±0.51^{a}	-17.61
	2%	4.86±1.92^{a}	1.38±0.11^{a}	0.58±0.05^{a}	84.13±0.50^{bc}	15.46±0.56^{a}	-6.41
	2.5%	4.07±0.43^{a}	1.40±0.40^{a}	0.56±0.01^{a}	83.86±0.24^{b}	16.63±1.37^{a}	-6.51
facultative anaerobe	1.5%	4.90±1.61^{a}	2.03±0.75^{a}	0.52±0.06^{a}	84.77±0.71^{bc}	16.68±0.31^{a}	-8.89
	2%	5.64±1.05^{a}	1.72±1.26^{a}	0.56±0.01^{a}	84.92±0.72^{c}	16.93±0.54^{a}	-9.77
	2.5%	5.21±2.66^{a}	3.37±0.65^{a}	0.48±0.10^{a}	86.22±0.80^{d}	16.43±1.38^{a}	-11.71

หมายเหตุ1 : a-c ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น95%(ค่าp < 0.05) โปรแกรมIBMSPSS

หมายเหตุ2: เปอร์เซนต์(%) ไขมัน และเปอร์เซนต์(%) ใยอาหาร ของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมักไม่ได้นำมาคำนวณทางสถิติเนื่องจากทำการทดลองเพียงหนึ่งครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

4.2.1 ตรวจวิเคราะห์ด้านเชื้อกลุ่มแลคติกและกลุ่มก่อโรค

4.2.1.1 ตรวจหาเชื้อ Lactic acid bacteria ในกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและสภาวะ facultative anaerobe ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ 2.5% (v/v)

จากการทดลองนำกากถั่วเหลืองหมักมาตรวจหาเชื้อ Lactic acid bacteria ตาราง 4.2.1 พบว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก พบ 3.9×10^2 cfu/ml ส่วนใน control กากถั่วเหลืองหมักที่สภาวะมีอากาศและสภาวะสภาวะ facultative anaerobe พบปริมาณเชื้อ 4.2×10^2 และ 6.5×10^3 cfu/ml ตามลำดับ และในความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ 2.5% (v/v) พบปริมาณเชื้อ $3.49 \times 10^4 \pm 3.40$, $2.60 \times 10^4 \pm 2.60$, $4.25 \times 10^4 \pm 3.03$, $1.26 \times 10^4 \pm 0.08$, $7.23 \times 10^4 \pm 0.04$ และ $3.75 \times 10^5 \pm 3.72$ cfu/ml ตามลำดับ

4.2.1.2 ตรวจหาเชื้อ *E. coli* ในกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและสภาวะ facultative anaerobe ความเข้มข้นกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ2.5% (v/v)

จากการทดลองนำกากถั่วเหลืองหมักมาตรวจหาเชื้อ *E. coli* ตาราง 4.2.1 พบว่ากากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก พบ 7.02×10^4 cfu/ml ส่วนใน control กากถั่วเหลืองหมักที่สภาวะมีอากาศและสภาวะ facultative anaerobe พบปริมาณเชื้อ 7.7×10^3และ 7.21×10^4 cfu/ml ตามลำดับ และในความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.5%, 2%และ 2.5% (v/v) พบปริมาณเชื้อ $6.02 \times 10^4 \pm 3.95$, $2.93 \times 10^3 \pm 1.84$, $4.98 \times 10^4 \pm 2.88$, $1.25 \times 10^5 \pm 0.33$, $3.76 \times 10^4 \pm 3.43$ และ $2.95 \times 10^3 \pm 4.16$ cfu/ml ตามลำดับ 7.21×10^4 cfu/ml

ผลการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria และ *E. coli* ในกากถั่วเหลืองหมัก โดยใช้การวิเคราะห์สถิติ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria สภาวะที่มีอากาศและสภาวะ facultative anaerobe มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และในปริมาณเชื้อ *E. coli* สภาวะมีอากาศและไม่มีอากาศ มีความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ดังตาราง 4.2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 4.2.1 ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria และ *E. coli* ของกากถั่วเหลืองไม่ได้ผ่านการหมัก และกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักด้วยกรดอะซิติกที่ 1.5% , 2% และ 2.5% (v/v) ที่สภาะมีอากาศและ facultative anaerobe

สภาวะ	เปอร์เซนต์กรดอะซิติก(%)	ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)	
		Lactic acid bacteria	*E. coli*
control(กากถั่วเหลืองไม่ผ่านการหมัก)	-	3.9×10^2	7.02×10^4
control (กากถั่วเหลืองหมัก)	-	4.2×10^2	7.7×10^3
มีอากาศ	1.5%	$3.49 \times 10^4 \pm 3.40^{ab}$	$6.02 \times 10^4 \pm 3.95^a$
	2%	$2.60 \times 10^4 \pm 2.60^{ab}$	$2.93 \times 10^3 \pm 1.84^a$
	2.5%	$4.25 \times 10^4 \pm 3.03^{ab}$	$4.98 \times 10^4 \pm 2.88^a$
control(กากถั่วเหลืองหมัก)	-	6.5×10^3	7.21×10^4
facultative anaerobe	1.5%	$1.26 \times 10^4 \pm 0.08^a$	$1.25 \times 10^5 \pm 0.33^a$
	2%	$7.23 \times 10^4 \pm 0.04^b$	$3.76 \times 10^4 \pm 3.43^a$
	2.5%	$3.75 \times 10^5 \pm 3.72^{ab}$	$2.95 \times 10^3 \pm 4.16^a$

หมายเหตุ1: a-b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(ค่าp < 0.05) โปรแกรมIBMSPSS

หมายเหตุ2: ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria และ *E. coli* ของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก และ control ของในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ไม่ได้นำมาคำนวณทางสถิติเนื่องจากทำการทดลองเพียงหนึ่งครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และค่า Degree of Polymerization (DP) ของกากถั่วเหลืองไม่หมักและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และค่าDP ในกากถั่วเหลืองหมักที่สภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดที่ 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) ดังตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้หมักมีค่า 1.82 mg/ml โดยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของกากถั่วเหลืองที่หมักในสภาวะที่มีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรด 1.5%, 2% และ 2.5% (v/v) คือ 0.53±0.29, 0.68±0.22, 0.59±0.21, 0.76±0.57, 1.45±1.54 และ1.35±1.65 mg/ml ตามลำดับ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้หมักมีค่า 1.46 mg/ml โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่พบในกากถั่วเหลืองที่หมักในสภาวะที่มีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรด 1.5%, 2% และ 2.5% (v/v) คือ 1.64±0.89, 1.45±1.04, 0.92±0.92, 0.64±0.22, 1.63±1.49 และ0.70±0.45 mg/ml ตามลำดับ พบว่ากากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้น 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากภายในกากถั่วเหลืองมีคาร์โบไฮเดรตซึ่งเชื้อสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตให้เป็นสารประกอบโมเลกุลเล็กทำให้ปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดียวเพิ่มขึ้น (ยุวศรี 2555) นำค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มาหาค่า Degree of polymerization (DP) พบว่า DP กากถั่วเหลืองที่ไม่ได้หมักได้ค่า 1.24 ส่วนกากถั่วเหลืองที่หมักในสภาวะที่มีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 1.5%, 2% และ2.5% (v/v) ที่ได้คือ 0.76±0.34, 0.55±0.31, 0.34±0.31, 0.93±0.86, 2.84±1.73 และ 0.45±0.12 ดังตาราง 4.3

ผลการวิเคราะปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และ Degree polymerization ในกากถั่วเหลืองหมัก โดยใช้การวิเคราะห์สถิติ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มีความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ค่า Degree polymerization พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.3.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3.1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และจำนวน Degree polymerization ของตัวอย่างกากถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองหมักในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดที่ 1.5, 2 และ 2.5% (v/v) 2.5% (v/v)

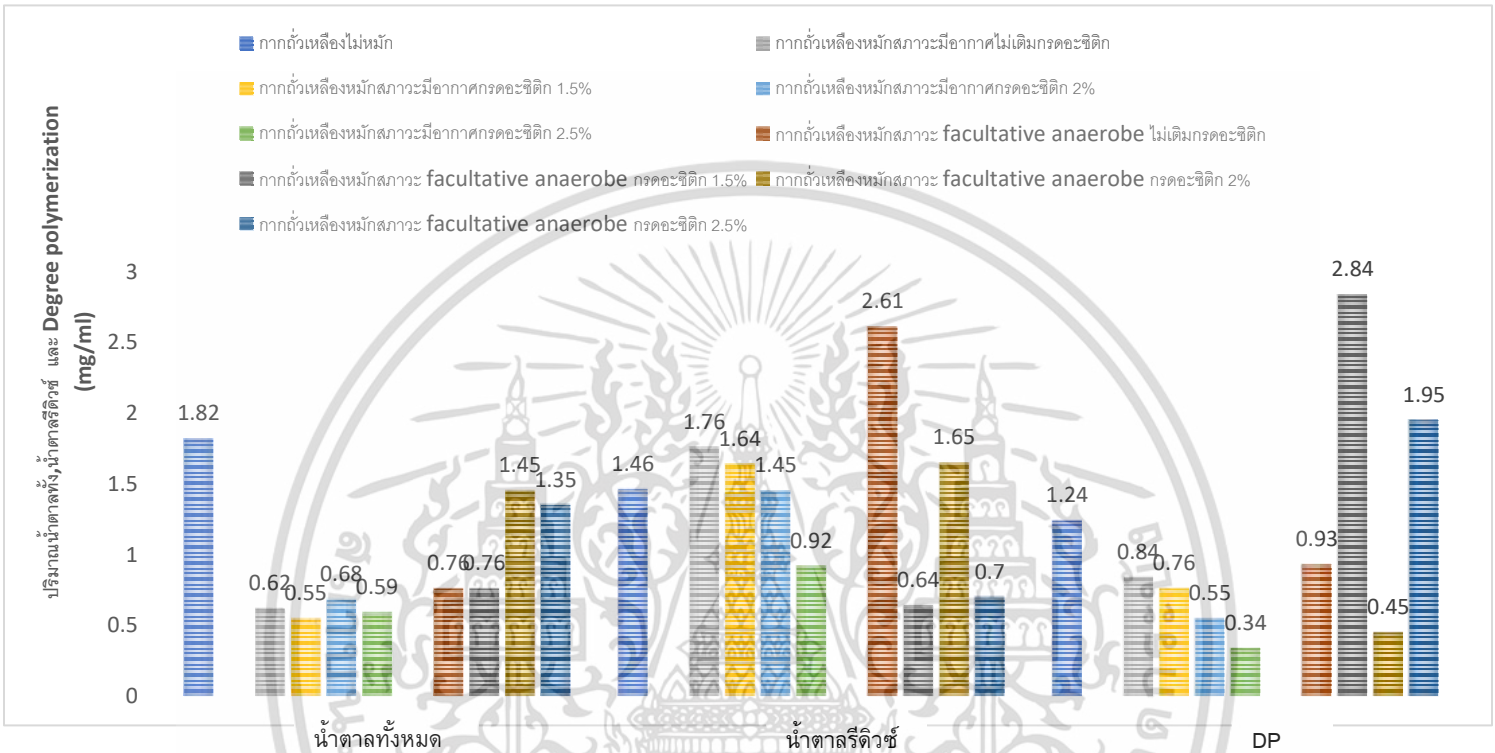
สภาวะ	เปอร์เซนต์กรดอะซิติก	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์	Degree polymerization (DP)
control(กากถั่วเหลืองไม่ผ่านการหมัก)	-	1.82	1.46	1.24
control(กากถั่วเหลืองหมัก)	-	0.62	1.76	0.84
มีอากาศ	1.5%	0.53±0.29^{a}	1.64±0.89^{a}	0.76±0.30^{b}
	2%	0.68±0.22^{a}	1.45±1.04^{a}	0.55±0.08^{ab}
	2.5%	0.59±0.21^{a}	0.92±0.92^{a}	0.34±0.22^{a}
control(กากถั่วเหลืองหมัก)	-	0.76	2.61	0.29
facultative anaerobe	1.5%	0.76±0.57^{a}	0.64±0.22^{a}	0.93±0.86^{a}
	2%	1.45±1.54^{a}	1.63±1.49^{a}	2.84±1.73^{b}
	2.5%	1.35±1.65^{a}	0.70±0.45^{a}	0.45±0.12^{a}

หมายเหตุ1: a-b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึงค่าเฉลี่ยต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(ค่าp < 0.05) โปรแกรมIBMSPSS

หมายเหตุ2: ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด , น้ำตาลรีดิวซ์ และ Degree of polymerization ไม่ได้นำมาคำนวณทางสถิติ เนื่องจากทำการทดลองเพียงหนึ่งครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.3.1 แผนภูมิแท่งแสดงผลเฉลี่ยค่าน้ำตาลทั้งหมด,น้ำตาลรีดิวซ์ และ Degree polymerization ในกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น1.5, 2 และ 2.5% (v/v) ในสภาวะมีอากาศและ facultative anaerobe



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองการหมักกากถั่วเหลืองจากธรรมชาติโดยใช้เปอร์เซนต์ความเข้มข้นของกรดและกำหนดสภาวะในการเลี้ยงเชื้อเพื่อหาสภาวะที่เชื้อในกากถั่วเหลืองสามารถใช้ในการเจริญเติบโตได้ จากการทดลองสภาวะ facultative anaerobe ที่ความเข้มข้นกรดที่ 2.5% การวิเคราะห์ตรวจหาเชื้อ Lactic acid bacteria พบว่าปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมักและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักแต่ไม่ได้เติมกรดอะซิติก ส่วนปริมาณเชื้อ *E. coli* มีปริมาณที่ลดลง จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในกากถั่วเหลืองหมักสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ (ธเนศ, 2557) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่าที่วัดออกมาได้เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลทั้งของกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมักและกากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักแต่ไม่ได้เติมกรดอะซิติก มีปริมาณน้ำตาลลดลงอย่างเห็นได้ชัดเจน ส่วนค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีการเพิ่มขึ้นจากกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก และเมื่อนำค่าปริมาณน้ำตาลที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ Degree of polymerization ค่าที่ได้มีค่าที่ลดลงน้อยที่สุดเมื่อนำไปเทียบค่ากับกากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านการหมัก ซึ่งแสดงให้เห็นเชื้อสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ได้จากกากถั่วเหลืองได้ดี สภาวะการหมักของกากถั่วเหลืองจากธรรมชาติโดยกำหนดสภาวะในการหมักและความเข้มข้นของกรดพบว่า สภาวะ facultative anaerobe ความเข้มข้นที่ 2.5% เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักมากที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.3 ในการทดลองควรใช้เทคนิค aseptic technique ในการทดลองเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการและเมื่อทำการหมักเสร็จควรเก็บไว้ให้พ้นจากสัตว์และแมลงต่างๆ เช่น หนู แมลงสาบ เพื่อไม่ให้กากถั่วเหลืองเน่าเสียได้

5.2.4 ควรเก็บรักษากากถั่วเหลืองก่อนและระหว่างการศึกษาทดลองในอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อป้องกันกากถั่วเหลืองเน่าเสียและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

5.2.5 วิธีอบลมร้อนเพื่อหาความชื้น ควรระวังการใช้ความร้อนอุณหภูมิที่สูงและใช้เวลานานเกินไป เนื่องจากจะทำให้สารอินทรีย์อื่นๆที่ระเหยได้จะระเหยออกไปด้วยและอาจทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบอินทรีย์บางชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ธงธวัช อนุครรหานนท์. 2555. กากถั่วเหลือง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://www.goodthaifeed.com/. 1 ธันวาคม 2562.

Herkelma et al. 1992. กากถั่วเหลืองหมัก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://siamagrisupply.com/page.php?content=news&id=141. 1 ธันวาคม 2562.

สุมณฑา. 2545, สมใจ. 2537. แบคทีเรียแลคติก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://research system.siam.edu/images/researchin/Isolation_and_Screening_of_Antibacterial_Substances_of_Lactic_Acid_Bacteria/8%20ch%202.pdf. 1 ธันวาคม 2562.

ศนิ จิระสถิตย์. 2560. จุลินทรีย์ก่อโรค. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://www.kmutt.ac.th/jif/public_html/article_detail.php?ArticleID=210148. 1 ธันวาคม 2562.

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2561. E. coli. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1125/escherichia-coli-e-coli. 1 ธันวาคม 2562.

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2553. degree-of-polymerisation. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3210/degree-of-polymerisation-dp. 22 กรกฎาคม 2563.

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2553. น้ำตาลรีดิวซ์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1056/reducing-sugar-น้ำตาลรีดิวซ์. 22 กรกฎาคม 2563.

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2553. น้ำตาลนอนรีดิวซ์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/5536/nonreducing-sugar. 22 กรกฎาคม 2563.

ผศ.ดร.ดุษฎี อุตภาพ. 2530. เคมีของคาร์โบไฮเดรต. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/Chap1/chapter1_3.html. 22 กรกฎาคม 2563.

การวิเคราะห์ทางเคมี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://kb.psu.ac.th/psukb/bitstream/2010/8972/11/Appendix.pdf. 26 มิถุนายน 2563.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2539. หลักการอาหารสัตว์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://nutrition.dld.go.th/Nutrition_Knowlage/ARTICLE/ArtileP.htm. 22 กรกฎาคม 2563.

วรารักษ์ ถาวรนาน และคณะ. 2562. กากถั่วเหลืองหมัก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=9_116_48_2%202.pdf&id=4179&keeptrack=5. 22 กรกฎาคม 2563.

ชูศักดิ์ พูลมา. 2562. กากถั่วเหลืองหมัก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://research.rmutsb.ac.th/fullpaper/2561/research.rmutsb-2561-20191128153954448.pdf. 22 กรกฎาคม 2563.

งานวิจัยของ ขวัญชัย (2550) ได้ศึกษาวิจัยหัวข้อเรื่อง ผลของกากถั่วเหลืองหมักต่อการพัฒนาของวิลไลปละสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหย่านม. cmuir.cmu.ac.th/handle/6653943832/19844

Adeyemo, S.M., Onilude, A.A., 2013. Enzymatic reduction of anti-nutritional factors in fermenting soybeans by lactobacillus plantarum isolates from fermenting cereals. Niger. Food J. 31 (2), 84–90.

Chen, X., Chen, S., Sun, M., Yu, Z., 2005. High yield of poly-gamma-glutamic acid from Bacillus subtilis by solid-state fermentation using swine manure as the basis of a solid substrate. Bioresour. Technol. 96 (17), 1872–1879.

Chen, Y., Ye, R., Yin, L., Zhang, N., 2014. Novel blasting extrusion processing improved the physicochemical properties of soluble dietary fiber from soybean residue and in vivo evaluation. J. Food Eng. 120, 1–8.

Gupta, S., Lee, J. J., & Chen, W. N. (2018). Analysis of improved nutritional composition of potential functional food (Okara) after probiotic solid-state fermentation. Journal of agricultural and food chemistry, 66(21), 5373-5381.

Kiers, J. L., Meijer, J. C., Nout, M. J. R., Rombouts, F. M., Nabuurs, M. J. A., & Van der Meulen, J. (2003). Effect of fermented soya beans on diarrhoea and feed efficiency in weaned piglets. Journal of Applied Microbiology, 95(3), 545-552.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Li, S., Wang, L., Song, C., Hu, X., Sun, H., Yang, Y., Lei, Z., Zhang, Z., 2014. Utilization of soybean curd residue for polysaccharides by Wolfiporiaextensa (Peck) Ginns and the antioxidant activities in vitro. J. Taiwan Inst. Chem. Eng. 45 (1), 6–11.

Quintana, G., Gerbino, E., & Gómez-Zavaglia, A. (2017). Okara: A nutritionally valuable by-product able to stabilize Lactobacillus plantarum during freeze-drying, spray-drying, and storage. Frontiers in Microbiology, 8, 641.

Vong, W.C., Liu, S.-Q., 2019. The effects of carbohydrase, probiotic Lactobacillus paracasei and yeast Lindnerasaturnus on the composition of a novel okara (soybean residue) functional beverage. Lwt 100, 196–204.

Vongsudin, W., Laohakunjit, N., & Kerdchoechuen, O. (2010). Chemical composition changes of fermented cereals with Lactobacillus plantarum. Warasan Witthayasat Kaset.

Zangeneh, M., Khaleghi, M., & Khorrami, S. (2019). Isolation of Lactobacillus plantarum Strains with Robust Antagonistic Activity, Qualified Probiotic Properties, and Without Antibiotic-resistance From Traditional Sourdough. Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection, 6(2), 66-74.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. สูตรอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) ต่อส่วนผสม 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus ประกอบด้วย

1.1	Proteose peptone	10.0	กรัม
1.2	Beef extract	10.0	กรัม
1.3	Yeast extract	5.0	กรัม
1.4	Dextrose	20.0	กรัม
1.5	Tween 80	1.0	กรัม
1.6	Ammonium citrate	2.0	กรัม
1.7	Sodium acetate	5.0	กรัม
1.8	Magnesium sulfate	0.1	กรัม
1.9	Manganese sulfate	0.05	กรัม
1.10	Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
1.11	Agar	15.0	กรัม
1.12	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

*ปรับpH เป็น 6.2±0.2 at 25°C ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็น เวลา 15 นาที

2. สูตรอาหาร Eosin Methylene Blue Agar (EMB) ต่อส่วนผสม 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงเชื้อ E-coli ประกอบด้วย

2.1	Peptone	10.0	กรัม
2.2	Di-potassiumhydrogenphosphate	2.0	กรัม
2.3	Lactose	5.0	กรัม
2.4	Sucrose	5.0	กรัม
2.5	Eosin yellowish	0.4	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6	Methylene blue	0.07	กรัม
2.7	Agar	13.5	กรัม
2.8	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

*ปรับpH เป็น 7.1±0.2 at 25°C ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็น เวลา 15 นาที

3.สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ต่อส่วนผสม 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงเชื้อ ราและยีตส์ ประกอบด้วย

3.1	มันฝรั่ง	200	กรัม
3.2	เดกซ์โทรส (Dextrose)	20	กรัม
3.3	วุ้น	15	กรัม
3.4	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

*นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็น เวลา 15 นาที

4.สูตรอาหาร Plate Count Agar (PCA) ต่อส่วนผสม 1,000 มิลลิลิตร สำหรับเลี้ยงเชื้อทั้งหมดประกอบด้วย

4.1	Tryptone	5.0	กรัม
4.2	Yeast extract	2.5	กรัม
4.3	Glucose	1.0	กรัม
4.4	Agar	15.0	กรัม
4.5	น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

*นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็น เวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้าในกากถั่วเหลือง โดยการนำตัวอย่างอาหารไปเผาในเตาเผา

1.1 อุปกรณ์

1.1.1 เตาเผา

1.1.2 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible)

1.1.3 โถดูดความชื้น (Desiccator)

1.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 นำถ้วยcruciber ไปเผาที่เตาเผาเพื่อไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พักทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 30 นาที ก่อนนำออกจากเตาเผา วางให้เย็นในโถดูดความชื้น (ควรเผาจนน้ำหนักของcruciber คงที่) และชั่งน้ำหนัก crucible ที่แน่นอนทันทีที่เย็นและบันทึกไว้

1.2.2 นำกากถั่วเหลืองมา 2 กรัม ใส่ใน crucible แล้วนำตัวอย่างไปเผาในตู้ดูดควันเพื่อไล่ความชื้นออกให้หมดโดยเตาไฟฟ้า

1.2.3 นำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

1.2.4 นำตัวอย่างที่เผาเสร็จมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้น และทำการชั่งน้ำหนักที่เหลืออยู่

1.3 วิธีคำนวณ

$$\text{เถ้าของกากถั่วเหลือง (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าของกากถั่วเหลืองหลังเผา}}{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนเผา}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในกากถั่วเหลือง โดยใช้ตู้อบลมร้อน

2.1 อุปกรณ์

2.1.1 ถ้วยอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น

2.1.2 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

2.1.3 โถดูดความชื้น (Desiccator)

2.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 อบถ้วยอะลูมิเนียมในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียล นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบไฟฟ้ามาใส่ในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักบันทึกผล

2.2.2 ทำซ้ำเหมือนข้อ 2.1.1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2.2.3 นำตัวอย่าง 1-2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

2.2.4 นำเข้าตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียล นาน 5-6 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิ 135 องศาเซลเซียล นาน 2 ชั่วโมง

2.2.5 เมื่อครบเวลานำออกจากเตาอบโดยใช้แท้งคีบ วางให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง

2.2.6 อบซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที และทำซ้ำอย่างเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

2.3 วิธีคำนวณ

$$\text{ความชื้นของกากถั่วเหลือง (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนอบ - น้ำหนักกากถั่วเหลืองหลังอบ}}{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนอบ}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวม โดยวิธี Kjeldahl Method

3.1อุปกรณ์

3.1.1 ขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl Apparatus)

3.1.2 เครื่องย่อย(Digestion Apparatus)

3.1.3 เครื่องกลั่น (Distallation)

3.1.4 ขาตั้งและบิวเรตสำหรับไทเทรตสารละลาย

3.1.5 ขวดรูปชมพู่ขนาด (Erlenmeyer flask) 250 มิลลิลิตร

3.1.6 กระบอกตวงขนาด 25, 100 และ 300 มิลลิลิตร

3.1.7 น้ำกลั่น

3.1.8 บีกเกอร์

3.1.9 glass bead or boiling chip

3.1.10 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารเคมี

3.2.1 Conc. Sulfuric acid

3.2.2 Mix Catalyst (สารผสมระหว่าง copper sulfate: potassium sulfate อัตราส่วน 1:10)

3.2.3 Sodium hydroxide เข้มข้นร้อยละ 40 โดยใช้Sodium hydroxide 40 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.2.4 Hydrochloric เข้มข้น 0.1 N

3.2.5 Boric acid เข้มข้นร้อยละ 4 เตรียมโดยต้มน้ำ กลั่น 50 มิลลิลิตรให้ร้อน แล้วใส่ผงกรดบอริกลงไป 4.0 กรัม ต้มจนละลายหมด ทิ้งไว้จนสารละลายเย็นลงแล้วจึงเติมน้ำ

3.2.6 Indicator เตรียมโดยใช้ (mixed indicator: methylred 0.1 กรัม: bromocresol green 0.1 กรัม ใน ethanol100 ml)

3.3 วิธีวิเคราะห์

3.3.1 ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม (ควรมีโปรตีนประมาณ 5 กรัม) ใส่ลงใน Kjeldalh flask เติม Mixed catalyst: CuSO4 0.1 กรัม, NaSO4 2 กรัม และconc.H2 SO4 25กรัม

<u>การย่อย(Digestion)</u>

3.3.2ย่อยบน heating mantle โดยให้ความร้อนอ่อนๆจนกระทั่งหมดฟองแล้วค่อยเพิ่มความ ร้อน อุณหภูมิ 400องศาเซลเซียส จนกระทั่ง สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็น

<u>การกลั่น (Distillation)</u>

3.3.3 เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย10-15 ml นำหลอดย่อยมาต่อเข้ากับ เครื่องกลั่น

3.3.4 เติม 40% NaOH 40-50 ml

3.3.5 นำ ereceiving flask ที่มี4% boric acid อยู่20-25 mlและเติม indicator ให้เรียบร้อยแล้วมารองรับสารละลายที่กลั่นได้

3.3.6 กลั่นจนได้สารละลายประมาณ 25 ml

3.3.7 ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.1 N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสี เขียวเป็นสีม่วงอมชมพู

3.3.8 ทำ blank ตามข้อ 1-7 โดยไม่ต้องใส่ตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times N \times 14 \times 100 \times F}{W_t \times 1000}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับ blank (มิลลิลิตร)

W_t คือ น้ำหนักของตวัอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)

F คือค่าแฟคเตอร์

4. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ด้วย soxhlet

4.1 วัสดุอุปกรณ์

4.1.1 Soxhlet apparatus

4.1.2 หลอดใส่ตัวอย่า ง

4.1.3 ตู้อบไฟฟ้ า 100

4.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

4.1.5 โถดูดความชื้น

4.2 สารเคมี

4.2.1 ปิโตรเลียมอีเทอร์หรือเฮกเซน

4.3 วิธีวิเคราะห์

4.3.1 ใส่ขวดกลมสำหรับการหาปริมาณไขมนั ซึ่งมีขนาดความจุ250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าทิ้งไวให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

4.3.2 ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำ หนัก 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดใส่ลงในหลอด สำหรับใส่ตวัอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3 นำหลอดตวัอย่างใส่ลงใน Soxhlet เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมัน ประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา

4.4.4 ประกอบอุปกรณ์ชุดกลั่นไขมัน พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทช์ ให้ความร้อน

4.3.5 ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

4.3.6 เมื่อครบ 2 ชั่วโมงแล้ว นำหลอดใส่ตวัอย่างออกจากSoxhlet ทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจาก Soxhlet ลงในขวดก้นกลมจนหมด

4.3.7 ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

4.3.8 นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสจนแห้ง ทิ้งให้เย็นใน โถดูดความชื้น

4.3.9 ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาทีจนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม 4.3.10 คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

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

W1 คือ น้ำ หนักขวดตัวอย่างก่อนอบ

W2 คือ น้ำ หนักขวดตวัอย่างหลังอบ

5. การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารในกากถั่วเหลือง

5.1 อุปกรณ์

5.1.1 ที่คีบ (Tong)

5.1.2 ถ้วยชนิดทนไฟ ขนาดตัวกรองประมาณ 40-90 ไมครอน

5.1.3 โถดูดความชื้น (Desiccator)

5.1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

5.1.5 เตาเผาไฟฟ้า

5.1.6 ตู้อบลมร้อน

5.1.7 เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 วิธีวิเคราะห์

5.2.1 นำถ้วยชนิดทนไฟ ไปเผาที่เตาเผาเพื่อไล่ความชื้น ที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พักทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 1 วัน ก่อนนำออกจากเตาเผา วางให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟที่แน่นอนทันทีที่เย็นและบันทึกไว้

5.2.2 ชั่งกากถั่วเหลืองที่ผ่านการดึงไขมันออกแล้ว 1 กรัม ใส่ในถ้วยชนิดทนไฟ แล้วนำตัวอย่างไปเข้าเครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร

5.2.3 เปิดฝาด้านบนเครื่อง เติมกรดซัลฟูริก 0.255 N ที่อุ่นๆ จำนวน150 มล. ลงในขวดย่อยแต่ละตัวอย่าง

5.2.4 เติม n-Octanal ปริมาณ 2-3 หยดเพื่อป้องกันการเกิดฟองล้น แล้วให้ความร้อนจนเดือด

5.2.5 ลดความร้อนลง และต้มต่อเป็นเวลา 30 นาที

5.2.6 กรองเอากรดออก แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นร้อนสามครั้ง ครั้งละ30 มล. กรองให้แห้ง

5.2.7 เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 N ที่อุ่นๆ จำนวน150 มล. ลงในขวดย่อยแต่ละตัวอย่าง

5.2.8 กรองเอาด่างออก แล้วล้างออกด้วยน้ำกลั่นร้อนสามครั้ง ครั้งละ30 มล. กรองให้แห้ง

5.2.9 ล้างกากที่อยู่ในถ้วยชนิดทนไฟด้วยอะซิโตน 25 มล. กรองให้แห้ง

5.2.10 นำถ้วยชนิดทนไฟไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชม. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักแน่นอน

5.2.11 นำเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 525 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง พักทิ้งไว้ให้เย็นลงประมาณ 1 วัน ก่อนนำออกจากเตาเผา วางให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟที่แน่นอนทันทีที่เย็นและบันทึกไว้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีคำนวณ

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

เมื่อ

W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและกากหลังอบแห้ง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและกากหลังจากเผา (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.1 การคำนวณปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

ตารางที่ ค.1 ตัวอย่างการคำนวณปริมาณเชื้อ *E. coli*

ซ้ำที่	จำนวนเชื้อที่นับได้		ปริมาณเชื้อ (CFU/ml)
	ระดับความเจือจาง		
	1:10	1:100	
1	73	107	5.6×10^{2} cfu/ml
2	38	1	
เฉลี่ย	55.5		
	55.5×10^{-1}		
	555		

วิธีการคำนวณ

1.ตรวจนับจำนวนโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี

2.หลังจากได้ผลการตรวจนับ 5.6×10^{2} cfu/ml จากนั้นทำการหารด้วยน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งมีน้ำหนัก 25 g. โดยมีวิธีการคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณเชื้อทั้งหมดที่พบในตัวอย่าง 25 g.} = \frac{5.6 \times 10^{2}}{25} = 22.4 \text{ cfu/ml}$$

ดังนั้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *E.coli* ที่พบในตัวอย่าง 25 g. มี 2.2×10^{1} cfu/ml

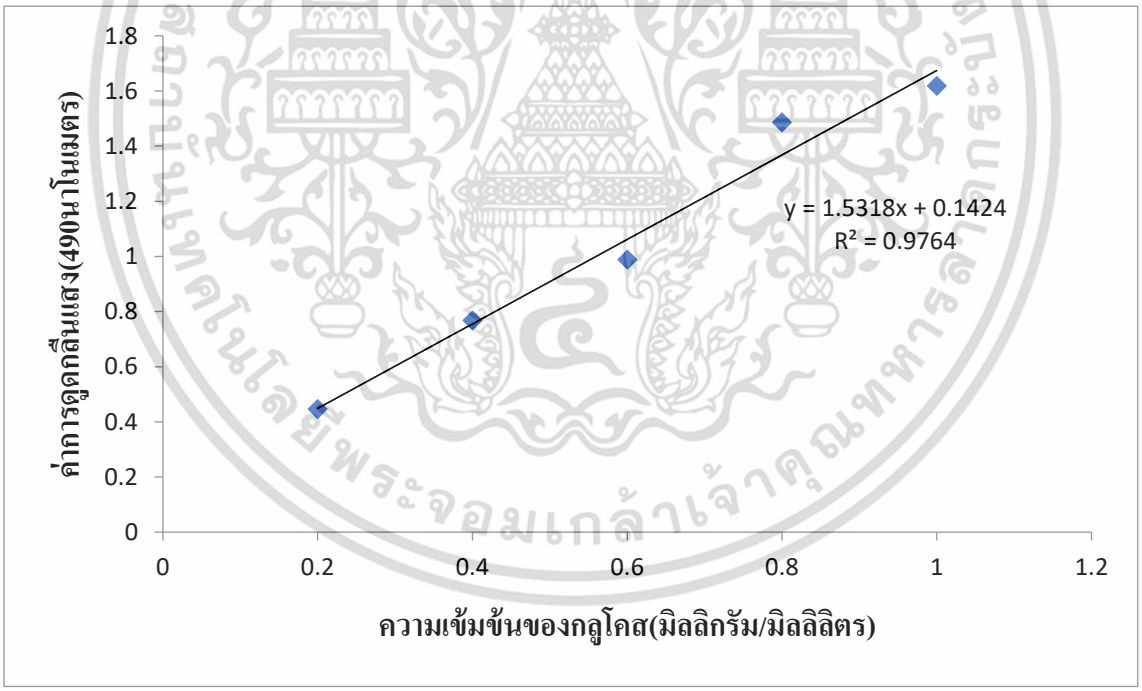
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2 การคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานโดยชั่งกลูโคส 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สารละลายกลูโคส (มิลลิลิตร)	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

กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ฟีนอลซัลฟิวริก)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าความยาวคลื่น(OD) 490 นาโนเมตร ของกากถั่วเหลือง

สภาวะ	ความเข้มข้นของกรด(%)	ค่า OD 490 nm
มีอากาศ	1.5%	0.1283

วิธีการคำนวณ

คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกากถั่วเหลืองด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (ml/mg)

สมการจากกราฟ $y = 1.5318x$

จะได้ $0.1283 = 1.5318x$

$x = 0.0838$ x6 (เจือจาง 6 เท่า)

$x = 0.5028$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หรือ $x = 0.0005$ กรัมต่อมิลลิลิตร

คำนวณหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในกากถั่วเหลืองด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (mg)

ได้ปริมาตรน้ำตาลทั้งหมด 0.5028 mg/ml

จะได้ 0.5028 mg/ml สกัด 300 ml = 150.84 mg

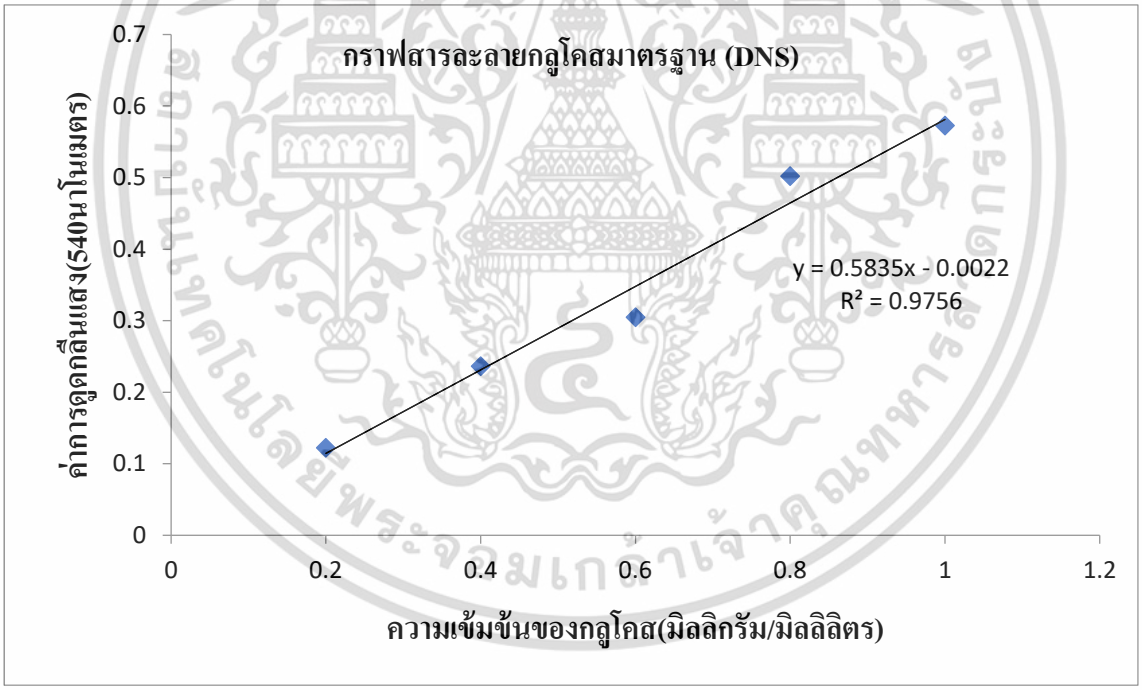
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.3 การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานโดยชั่งกลูโคส 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

สารละลายกลูโคส (มิลลิลิตร)	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

กราฟสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (DNS)



ตารางค่าความยาวคลื่น(OD) 540 นาโนเมตร ของกากถั่วเหลือง

สภาวะ	ความเข้มข้นของกรด(%)	ค่า OD 540 nm
มีอากาศ	1.5%	0.2384

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีคำนวณ

คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากถั่วเหลืองด้วยวิธี DNS (ml/mg)

สมการจากกราฟ $y = 0.5835x$

จะได้ $0.2384 = 0.5835x$

$x = 0.4086$ x3(เจือจาง 3 เท่า)

$x = 1.2258$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

หรือ $x = 0.0012$ กรัมต่อมิลลิลิตร

คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกากถั่วเหลืองด้วยวิธี DNS (mg)

ได้ปริมาตรน้ำตาลทั้งหมด 1.2258 mg/ml

จะได้ 1.2258 mg/ml สกัด 300 ml = 367.74 mg

ค.4 คำนวณ Degree of polymerization

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (mg)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg)
150.84	367.74

วิธีคำนวณ

สมการ Degree Polymerization = $\frac{\text{น้ำหนักโมเลกุลโพลิเมอร์ทั้งหมด}}{\text{น้ำหนักโมเลกุลต่อ1หน่วย}}$

$= \frac{150.84}{367.74}$

$= 0.41$mg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.5 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น

ชนิดตัวอย่าง	ซ้ำที่	น้ำหนัก moisture can ที่อบแล้ว	น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนอบ	น้ำหนักรวม(moisture can +กากถั่วเหลือง) หลังอบ	น้ำหนักกากถั่วเหลืองหลังอบ	%ความชื้น	%ความชื้น (เฉลี่ย)
กากถั่วเหลือง	1	17.0202	5.4365	18.0844	1.0642	80.4249	80.4170
	2	17.4894	5.1279	18.4940	1.0046	80.4091	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	18.9775	5.5150	19.5974	0.6199	88.7597	89.0926
	2	16.1562	5.2210	16.7083	0.5521	89.4254	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศด้วยการปรับกรด 1.5%	1	17.8611	5.2052	18.5157	0.6546	87.4241	87.2969
	2	16.9270	5.4552	17.5868	0.6598	87.9051	
	3	17.7761	5.7602	18.5240	0.7479	87.0161	
	4	16.3573	5.4721	17.0773	0.72	86.8423	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศด้วยการปรับกรด 2%	1	17.1496	5.7275	18.0157	0.8661	84.8782	84.1315
	2	14.1543	5.5979	15.0545	0.9002	83.9190	
	3	15.4053	5.2879	16.2605	0.8552	83.8272	
	4	14.9294	5.7800	15.8599	0.9305	83.9014	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศด้วยการปรับกรด 2.5%	1	17.9311	5.2838	18.7756	0.8445	84.0172	83.8592
	2	14.7979	5.7639	15.7380	0.9401	83.6899	
	3	15.5751	5.4017	16.4597	0.8846	83.6237	
	4	17.1603	5.1385	17.9770	0.8167	84.1063	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	17.6261	5.4971	18.6782	1.0521	80.8608	82.8104
	2	19.6027	5.3281	20.4147	0.812	84.7600	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศด้วยการปรับกรด 1.5%	1	17.5589	5.4405	18.4190	0.8601	84.1908	84.7671
	2	17.7250	5.5797	18.6112	0.8862	84.1174	
	3	17.7302	5.6671	18.5573	0.8271	85.4052	
	4	14.7407	5.5964	15.5603	0.8196	85.3549	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	16.8029	5.4193	17.6494	0.8465	84.3799	
	2	15.7964	5.6187	16.6828	0.8864	84.2241	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยการปรับกรด 2%	3	18.0945	5.6574	18.9110	0.8165	85.5676	84.9241
	4	16.3153	5.4342	17.1019	0.7866	85.5250	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศด้วยการปรับกรด 2.5%	1	15.2163	5.2086	15.9764	0.7601	85.4068	86.2218
	2	15.3909	5.5881	16.1914	0.8005	85.6749	
	3	14.4389	5.2525	15.1214	0.6825	87.0062	
	4	16.2423	5.2429	16.9344	0.6921	86.7993	

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{ความชื้นของกากถั่วเหลือง} = \frac{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนอบ} - \text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองหลังอบ}}{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนอบ}} \times 100$$

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

ตัวอย่างที่1

$$\%\text{ความชื้นของกากถั่วเหลือง} = \frac{5.4365 - 1.0642}{5.4365} \times 100$$

$$= 80.4249\ \%$$

ตัวอย่างที่2

$$\%\text{ความชื้นของกากถั่วเหลือง} = \frac{5.1279 - 1.0046}{5.1279} \times 100$$

$$= 80.4091\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.6 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (ash)

ชนิดตัวอย่าง	ซ้ำที่	น้ำหนัก crucible ที่อบแล้ว	น้ำหนักกาก ถั่วเหลือง ก่อนเผา	น้ำหนักรวม (crucible + กากถั่วเหลือง) หลังเผา	น้ำหนักกาก ถั่วเหลือง หลังเผา	%เถ้า	%เถ้า (เฉลี่ย)
กากถั่วเหลือง	1	32.0912	2.0293	32.1050	0.0138	0.6800	0.6350
	2	25.6349	2.1055	25.6473	0.0124	0.5900	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	27.6883	3.0143	27.7077	0.0194	0.6435	0.6435
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศด้วย	1	25.1819	3.0537	25.1950	0.0131	0.4290	0.5054
การปรับกรด1.5%	2	29.5893	3.0423	29.6070	0.0177	0.5818	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศด้วย	1	29.7718	3.0135	29.7902	0.0184	0.6106	0.5785
การปรับกรด2%	2	25.4244	3.2394	25.4421	0.0177	0.5464	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	36.1610	3.0845	36.1785	0.0175	0.5674	0.5584
ด้วยการปรับกรด2.5%	2	36.9301	3.0942	36.9471	0.017	0.5494	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	29.4727	3.0187	29.4938	0.0211	0.6990	0.6990
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	28.9455	3.0428	28.9624	0.0169	0.5554	0.5164
ด้วยการปรับกรด1.5%	2	23.9188	3.0164	23.9332	0.0144	0.4774	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	25.3706	3.0352	25.3875	0.0169	0.5568	0.5604
ด้วยการปรับกรด2%	2	21.5812	3.0851	21.5986	0.0174	0.5640	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	24.1187	3.0771	24.1312	0.0125	0.4062	0.4793
ด้วยการปรับกรด2.5%	2	23.6908	3.0418	23.7076	0.0168	0.5523	

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{เถ้าของกากถั่วเหลือง} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้าของกากถั่วเหลืองหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักกากถั่วเหลืองก่อนเผา}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

ตัวอย่างที่1

$$\%\text{เถ้าของกากถั่วเหลือง} = \frac{0.0124 \times 100}{2.1055}$$

$$= 0.5900\ \%$$

ตัวอย่างที่2

$$\%\text{เถ้าของกากถั่วเหลือง} = \frac{0.0194 \times 100}{3.0143}$$

$$= 0.6435\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.7 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนรวม (crude protein ,CP)

ชนิดตัวอย่าง	ซ้ำที่	น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)	ความเข้มข้นของกรดไฮโดรครอลิกที่ใช้	ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง	ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank	%ไนโตรเจนในอาหาร	%โปรตีนในอาหาร	%โปรตีนในอาหาร (เฉลี่ย)
กากถั่วเหลือง	1	1	0.1	5.9	0	0.7685	4.8031	4.8222
	2	1	0.1	5.7	0	0.7746	4.8413	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	1	0.1	4.1	0	0.5740	3.5875	3.5875
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	1	0.1	5.2	0	0.7280	4.5500	4.0688
ด้วยการปรับกรด1.5%	2	1	0.1	4.1	0	0.5740	3.5875	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	1	0.1	7.1	0	0.9940	6.2125	4.8563
ด้วยการปรับกรด2%	2	1	0.1	4	0	0.5600	3.5000	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	1	0.1	5	0	0.7000	4.3750	4.0688
ด้วยการปรับกรด2.5%	2	1	0.1	4.3	0	0.6020	3.7625	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	1	0.1	5.9	0	0.8260	5.1625	5.1625
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	1	0.1	4.3	0	0.6020	3.7625	4.9000
ด้วยการปรับกรด1.5%	2	1	0.1	6.9	0	0.9660	6.0375	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	1	0.1	7.3	0	1.0220	6.3875	5.6438
ด้วยการปรับกรด2%	2	1	0.1	5.6	0	0.7840	4.9000	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	1	0.1	3.8	0	0.5320	3.3250	5.2063
ด้วยการปรับกรด2.5%	2	1	0.1	8.1	0	1.1340	7.0875	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{ไนโตรเจนในกากถั่วเหลือง} = \frac{(A-B) \times N \times 14 \times 100}{W \times 1000}$$

A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับblank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (normal)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

$$\%\text{ไนโตรเจนในกากถั่วเหลือง} = \frac{(4.1-0) \times 0.1 \times 14 \times 100}{1 \times 1000}$$

$$= 0.5740\ \%$$

วิธีการคำนวณ

$$\%\text{โปรตีนในกากถั่วเหลือง} = \%\text{ไนโตรเจนในกากถั่วเหลือง} \times 6.25$$

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

$$\%\text{โปรตีนในกากถั่วเหลือง} = 0.574\ \% \times 6.25$$

$$= 3.5875\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.8 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ether extract ,EE)

ชนิดตัวอย่าง	ซ้ำที่	น้ำหนักบีกเกอร์ที่อบแล้ว (W_1)	น้ำหนักกากถั่วเหลืองที่อบแล้ว (W)	น้ำหนักรวม (บีกเกอร์+ไขมัน) หลังอบ (W_2)	น้ำหนักไขมัน (W_2 - W_1)	%ไขมัน	%ไขมัน (เฉลี่ย)
กากถั่วเหลือง	1	140.5680	1	140.5869	0.0189	1.89	1.89
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	145.6772	1	145.8393	0.1621	16.21	16.21
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด1.5%	1	139.4796	1	139.5599	0.0803	8.03	6.55
	2	140.3906	1	140.4413	0.0507	5.07	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด2%	1	146.2615	1	146.2745	0.013	1.30	1.38
	2	144.6561	1	144.6707	0.0146	1.46	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด2.5%	1	142.7946	1	142.8114	0.0168	1.68	1.395
	2	140.5325	1	140.5436	0.0111	1.11	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	144.5918	1	144.6275	0.0357	3.57	3.57
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด1.5%	1	147.0916	1	147.1066	0.015	1.50	2.03
	2	136.6338	1	136.6594	0.0256	2.56	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด2%	1	141.4218	1	141.4371	0.0153	1.53	1.71
	2	141.6987	1	141.7176	0.0189	1.89	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด2.5%	1	144.7471	1	144.7854	0.0383	3.83	3.37
	2	139.2575	1	139.2866	0.0291	2.91	

วิธีการคำนวณ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

ตัวอย่างที่1

$$\%\text{ไขมันในกากถั่วเหลือง} = \frac{0.0189 \times 100}{1}$$

$$= 1.89\ \%$$

ตัวอย่างที่2

$$\%\text{ไขมันในกากถั่วเหลือง} = \frac{0.0803 \times 100}{1}$$

$$= 8.03\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.9 การคำนวณวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหาร (crude fiber ,CF)

ชนิดตัวอย่าง	ซ้ำที่	น้ำหนัก Crucible แก้วที่อบแล้ว	น้ำหนักกากถั่วเหลืองสกัดไขมันออกแล้ว (W)	น้ำหนักรวม (Crucibleแก้ว+ในอาหาร) หลังอบ (W_1)	น้ำหนักรวม (Crucibleแก้ว+ในอาหาร) หลังเผา (W_2)	%ใยอาหาร	%ใยอาหาร (เฉลี่ย)
กากถั่วเหลือง	1	29.5183	1.0371	29.6018	29.4168	17.8382	17.8382
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ	1	30.0160	0.9554	30.2724	29.9592	32.7821	32.7821
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด1.5%	1	29.9154	1.0054	30.1057	29.9091	19.5544	19.1953
	2	29.9860	1.0002	30.1437	29.9553	18.8362	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด2%	1	29.4994	1.0065	29.5900	29.4304	15.8569	15.4617
	2	29.7850	1.0082	29.8830	29.7311	15.0665	
กากถั่วเหลืองหมักแบบมีอากาศ ด้วยการปรับกรด2.5%	1	29.9001	1.0046	29.9956	29.8383	15.6580	16.6271
	2	30.0523	1.0167	30.1615	29.9826	17.5961	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ	1	30.0755	1.0039	30.1887	29.9941	19.3844	19.3844
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด1.5%	1	30.0514	1.0400	30.1578	29.9821	16.8942	16.6760
	2	29.8601	1.0056	29.9509	29.7854	16.4578	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด2%	1	29.4362	1.0190	29.5178	29.3492	16.5456	16.9303
	2	30.0449	1.0257	30.1758	29.9982	17.3150	
กากถั่วเหลืองหมักแบบไม่มีอากาศ ด้วยการปรับกรด2.5%	1	29.3235	1.0222	29.4163	29.2384	17.4036	16.4310
	2	30.5462	1.0001	30.6335	30.4789	15.4585	

วิธีการคำนวณ

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u>

ตัวอย่างที่1

$$\%\text{ไขมันในกากถั่วเหลือง} = \frac{29.6018 - 29.4168 \times 100}{1.0371}$$

$$= 17.8382\ \%$$

ตัวอย่างที่2

$$\%\text{ไขมันในกากถั่วเหลือง} = \frac{30.1057 - 29.9091 \times 100}{1.0054}$$

$$= 19.5544\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

รูปภาพปฏิบัติงานวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพที่ ง.1 การหมักกากถั่วเหลือง

ภาพที่ ง.2 สภาพถั่วเหลืองก่อนหมัก(มีอากาศ)

ภาพที่ ง.3 สภาพถั่วเหลืองหลังหมักไว้ 7 วัน (มีอากาศ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.4 สภาพถั่วเหลืองก่อนหมัก (Facultative anaerobe)

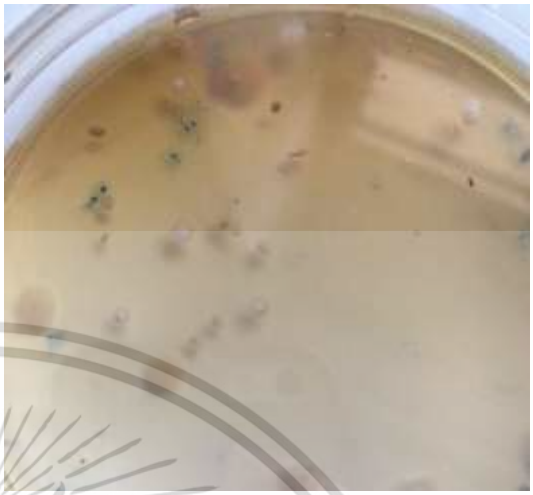
ภาพที่ ง.5 สภาพถั่วเหลืองหลังหมัก (Facultative anaerobe)

ภาพที่ ง.6 การวิเคราะห์ไขมัน

ภาพที่ ง.7 ทำ evaporator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.8 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีบนอาหาร EMB



ภาพที่ ง.9 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีบนอาหาร MRS

ภาพที่ ง.10 รูปร่างเซลล์ Lactic acid bacteria ผ่านกล้องจุลทรรศน์

ภาพที่ ง.11 ลักษณะโคโลนี *E.coli* ผ่านกล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอาทิตยาภรณ์ อัตตกิจกุล
วัน เดือน ปี เกิด	28 มิถุนายน 2541
ประวัติการศึกษา	- ปีการศึกษา 2559 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนตาคลีประชาสรรค์ แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ - ปีการศึกษา 2563 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	มิถุนายน 2562 สหกรณ์โคนมนครปฐม (นักศึกษาฝึกงาน) การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติกจากกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับสภาพความเป็นกรด

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอารียา คนไว
วัน เดือน ปี เกิด	13 กรกฎาคม 2539
ประวัติการศึกษา	- ปีการศึกษา 2558 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสันติราษฎร์วิทยาลัย แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ - ปีการศึกษา 2563 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมอาหาร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	มิถุนายน 2562 สหกรณ์โคนมนครปฐม (นักศึกษาฝึกงาน) การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติกจากกากถั่วเหลืองหมักโดยการปรับสภาพความเป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้