ชุดโครงการ3-305-54-12-01

รายงานการวิจัย

ชุดโครงการวิจัย

บาซิลัส สับทิลิส ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วหมักเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ

(*Bacillus subtilis* bioactivities nutritional and functional properties of fermented soybean to be function food products ingredients)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

ชุดโครงการ3-305-54-12-01

รายงานการวิจัย

ชุดโครงการวิจัย

บาซิลัส สับทิลิส ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วหมักเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ

(Bacillus subtilis bioactivities nutritional and functional properties of fermented soybean to be function food products ingredients)

โครงการวิจัยย่อย

1 **ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมัก**

หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย: ผศ.ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

2 **เทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก**

หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย: ผศ.ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

3 **สมบัติวิทยากระแสและการประยุกต์ใช้เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อบาซิลัส สับทิลิสในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ**

หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย: ผศ.ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

4 **การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก**

หัวหน้าโครงการวิจัยย่อย: ผศ.ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-2555

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

สิงหาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณผู้มอบทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554-2555 ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งขอบคุณหน่วยงานอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 อาคารศูนย์เครื่องมือ 3 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการวิจัยทดลอง ตลอดจนศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นแหล่งให้ข้อมูลประกอบงานวิจัยและเอกสารอ้างอิงต่างๆ เพื่อจัดทำรายงานการวิจัยเล่มนี้ให้ลุล่วงสำเร็จไปได้ด้วยดี

ผู้วิจัย

สิงหาคม 2558

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

ชุดโครงการนี้ประกอบด้วยโครงการย่อย 4 โครงการ วัตถุประสงค์ของชุดโครงการ คือ การผลิตกล้าเชื้อเพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ตลอดจนการนำไปใช้ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองและถั่วชนิดอื่นๆ เพื่อลดระยะเวลาในการหมัก การให้กลิ่นที่หอมฉุน และเป็นการเพิ่มบทบาทในการหมักที่ให้คุณภาพโดยรวมได้มากกว่าการหมักแบบธรรมชาติ ผลการวิจัยตลอดทั้งชุดโครงการวิจัยชี้ให้เห็นว่า *B. subtilis* SB-MYP 1 สามารถทำหน้าที่เป็นกล้าเชื้อที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่และออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีทั้งในถั่วเหลือง และถั่วขาว สารสกัดจากถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อมีปริมาณ ฟีนอลทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ เดอิสซีน เจนิสทีน และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ สูงกว่าสารสกัดจากถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เนื่องจาก *B. subtilis* SB-MYP1 ผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง ให้ได้เป็นสารต่างๆ เช่น dicarbonyl compound และ free amino acid ดังนั้นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพสามารถสกัดได้จากวิธีการหมักถั่วเหลือง จึงได้ทำการศึกษาการผลิตกล้าเชื้อผงที่ยังคงคุณสมบัติที่ดี และมีอายุการเก็บรักษานาน พบว่าวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดคือ กระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) ได้แก่ กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%(w/v) และกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%(w/v) หลังจากวิเคราะห์แล้วว่าพบว่าความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส ยังคงอย่างสม่ำเสมอ และมีอายุการเก็บรักษาอย่างน้อย 3 เดือน ดังนั้นกล้าเชื้อทั้ง 2 รูปแบบนี้จึงเหมาะและสะดวกต่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก งานวิจัยนี้ได้ทำการทดลองนำผลิตภัณฑ์ถั่วหมักที่ได้จากกล้าเชื้อไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ และเครื่องดื่ม พบว่าสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour ส่งผลต่อคุณสมบัติความเป็นของแข็งยืดหยุนอย่างสม่ำเสมอซึ่งเป็นลักษณะที่มีความหนืดและเป็นเจลแบบอ่อน ความหนืดที่เกิดขึ้นจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว และเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น ไม่เกิดการตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ ส่วนอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ ได้สูตรต้นแบบที่ดีที่สุดจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ ได้แก่ แคลเซียม (Ca) 1,997.50 mg/kg เหล็ก (Fe) 41.26 mg/kg และฟอสฟอรัส 3,091.50 mg/kg ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนเมทตาบอลิซึมภายในเซลล์ เสริมสร้างกระดูก พร้อมกันนั้นธาตุเหล็กมีผลต่อระดับฮีโมโกบินในเม็ดเลือดแดง ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวควรบรรจุด้วยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ควบคุมทั้งปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซินให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้นเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงสุด

Abstract

This research project includes 4 sub-projects for which the overall aims were to produce the *Bacillus subtilis* SB-MYP1 as the starter culture for functional fermented soybean food, with a focus upon its functional properties, and the fermentation of soybeans and other legumes in order to shorten the fermentation time as well as the aroma production. Furthermore, the overall quality was expected to be greater than that of conventional fermentation. Overall results drawn from each sub-project indicated that *B.subtilis* SB-MYP1 plays the role of functional properties and bioactive compound production in both soybeans and white kidney beans. It was found that fermented soybean and white kidney bean extract gained higher totals of phenolics, flavonoids, daidzein, genistein content and antioxidant activity than those of unfermented soybeans and white kidney beans since *B.subtilis* SB-MYP1 possesses proteinase which hydrolyzes soybean proteins into dicarbonyl compounds and free amino acids. Significant bioactive compounds, therefore, can potentially be extracted by means of soybean fermentation. Consequently, starter culture powers with high quality and long shelf life were subjected to examination. It was proved that the most effective forms were freeze dried starter cultures with 10% (w/v) maltodextrin and 10% (w/v) soybean flour which kept the protease stability and amylase activity for three months. Those two forms of starter cultures were then suited for soybean fermentation applications. Healthy snackbars and beverages from fermented soybeans using those three forms of *B.subtilis* SB-MYP1 were trialed. Results revealed that the exopolysaccharide (EPS) originally produced from the starter affected the regular elastic properties such as the soft gel-like and viscous characteristics resulting in avoidable sedimentation during storage. For snackbars, the ultimate master recipe was gained from a starter culture with soybean flour powder soybean based on acceptability to consumers and nutritional aspects such as calcium (Ca) 1,997.50 mg/kg, iron (Fe) 41.26 mg/kg and phosphorus (P) 3,091.50 mg/kg, which play important roles in cell metabolism, bone formation and hemoglobin levels in red blood cells, respectively. This product should be packed in aluminum foil bags to control the amount of moisture, and aflatoxin for extending the shelf life and minimizing the safety risk for consumers.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย	2
1.3 ทฤษฎี สมมุติฐาน หรือกรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	4
1.5 แผนการบริหารแผนงานวิจัยและแผนการดำเนินงาน และขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัย	5
1.6 แผนการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่จากการทำการวิจัยตามแผนงานวิจัย	8
บทที่ 2 สรุปผลการดำเนินงานวิจัย	9
2.1 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 1	9
2.2 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 2	9
2.3 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 3	11
2.4 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 4	13
บทที่ 3 การประมวล	16
3.1 การประเมินคุณสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพและการนำไปใช้กับวัตถุดิบอื่น	16
3.2 การพัฒนากล้าเชื้อและการเก็บรักษา	17
3.3 การพัฒนาและแปรรูปถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1	18

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 สรุปรวมผลงานวิจัย 21

4.1 สรุปรวมผลงานวิจัย 21

4.2 การศึกษาวิจัยเพิ่มเติม 23

บรรณานุกรม 24

ประวัตินักวิจัย 25

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินกิจกรรมชุดโครงการวิจัยตลอดทั้งโครงการ 5

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ได้จากการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* จึงเหมาะแก่การแก้ปัญหาทุพโภชนาการ และจากปัญหาโรคโลหิตจางที่มีสาเหตุมาจากการขาดธาตุเหล็ก ทำให้ผู้ป่วยมีการพัฒนาด้านต่างๆ ของร่างกายช้ากว่าคนปกติ การพัฒนาด้านสติปัญญา การเรียนรู้ ประสิทธิภาพในการทำงานตลอดจนด้านภูมิคุ้มกันโรคต่ำลง ทั้งนี้เพราะในเมล็ดถั่วเหลืองอุดมไปด้วยธาตุเหล็ก (Tajima, 2003) อย่างไรก็ตามการบริโภคถั่วหมักยังไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากการผลิตแบบพื้นบ้านไม่สามารถควบคุมคุณภาพได้ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ (Visessanguan, 2005) จึงเป็นเหตุให้มีการศึกษาวิจัยการใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* ในรูปแบบที่หลากหลาย เพื่อตอบสนองต่อการนำไปใช้ในกระบวนการหมัก กล้าเชื้อที่ใช้ศึกษามาจากผลการศึกษาวิจัยจากโครงการ “การลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยการใช้ *Bacillus subtilis* เป็นกล้าเชื้อในการหมัก” ซึ่งพบว่ากล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 มีคุณสมบัติช่วยลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของถั่วเหลืองหมัก สามารถผลิตเอนไซม์ที่จำเป็นในกระบวนการหมักถั่ว ยับยั้งเชื้อก่อโรค และทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักที่มีความสม่ำเสมอ จึงนำมาพัฒนาให้อยู่ในรูปที่สามารถนำมาใช้ได้ง่ายและสะดวก งานวิจัยนี้นอกจากจะนำกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ไปผลิตหัวเชื้อผงด้วยวิธี freeze-drying และ spray-drying ให้อยู่ในรูปแบบที่ง่ายต่อการเก็บรักษาและนำไปใช้งานแล้ว ยังนำกล้าเชื้อผงที่ได้ไปใช้ในกระบวนการหมักถั่วเหลือง และถั่วขาว พร้อมทั้งศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมถึงนำไปพัฒนาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยว (snack bar) และเครื่องดื่มจากถั่วเหลืองหมัก ที่ยังคงคุณค่าทางโภชนาการ มีความปลอดภัยจากสารพิษที่ผลิตจากเชื้อรา มีอายุการเก็บรักษา ในรูปแบบที่สามารถบริโภคได้ง่าย และเหมาะสำหรับกลุ่มผู้บริโภคมังสวิรัต

1.2 วัตถุประสงค์หลักของแผนงานวิจัย

(1) ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพคุณสมบัติเชิงหน้าที่ คุณค่าทางโภชนาการของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตถั่วหมัก

(2) ศึกษาคุณสมบัติของกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* ในรูปแบบการทำแห้งผงและการตรึงเซลล์ ของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก

(3) ศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของ Exopolysaccharide ที่ผลิตจาก *Bacillus subtilis* ในผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก

(4) เพื่อพัฒนาผลิตอาหารขบเคี้ยว (Snack bar) จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก เป็นการสร้างนวัตกรรมใหม่ของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

1.3 ทฤษฎี สมมุติฐาน และกรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกจากถั่วเหลืองหมัก และผ่านการทดสอบแล้วว่ามีคุณสมบัติในการลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก สามารถผลิตเอนไซม์ที่ย่อยสลายสารประกอบสำคัญในถั่วเหลืองระหว่างการหมัก เช่น strachyose ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อดังกล่าวนี้ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายได้แก่ แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส และวิตามินบี12 (ข้อมูลจาก รายงานการวิจัย การลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยการใช้ *Bacillus subtilis* เป็นกล้าเชื้อในการหมัก วช. 53) จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำกล้าเชื้อนี้ไปทดสอบและศึกษาคุณสมบัติทางโภชนาการและหรือฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ในถั่วเหลืองและถั่วขาว เช่น สารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ เดอิสซิน เจนิสทิน และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของถั่วเหลือง ถั่วขาวที่ผ่านการหมัก รวมถึงการนำกล้าเชื้อที่บริสุทธิ์นี้ไปพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบที่สามารถใช้งานได้สะดวกขึ้น กล่าวคือ การผลิตกล้าเชื้อแบบผงเชื้อจุลินทรีย์จะต้องผ่านกรรมวิธีในการผลิตที่มีอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้อง มีผลต่อต่อการทำลายและทำให้อัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อลดลง จึงต้องมีเทคโนโลยีป้องกันไม่ให้เซลล์ได้รับอันตราย โดยการเติม สารปกป้องเซลล์หรือสารที่ใช้เคลือบเซลล์จะป้องกันความร้อนหรือความเย็น (cryoprotectants) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการทำแห้ง สารประกอบที่นิยมใช้เป็นสารปกป้องเซลล์ ได้แก่ นมพร่องไขมัน น้ำตาล

ซูโครส กลีเซอรอล โซเดียมกลูตาเมต หรือส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคสกับซีรั่ม มอลโตเดกตริน alginate starch bentonite และ $MgSO_4$ เป็น matrix ร่วมกับ Biocontrol นอกจากนี้แป้งถั่วเหลือง หรือ soybean flour ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารปกป้องเซลล์ได้ เนื่องด้วยสารดังกล่าวเป็นสารชนิดเดียวกับวัตถุดิบที่นำไปหมัก และไม่ส่งผลต่อคุณภาพทางด้านกายภาพเมื่อนำไปใช้ นอกจากการผลิตกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ให้อยู่ในรูปผงที่คงคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยต่อการนำไปใช้งานแล้ว ชุดโครงการวิจัยนี้ยังส่งเสริมให้มีการพัฒนาการนำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-NYP1 ในรูปแบบกล้าเชื้อสด และกล้าเชื้อผง ไปพัฒนาเป็นผลิตที่มีความหลากหลาย ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพจากสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ ได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-NYP1 เอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตขึ้นโดยกล้าเชื้อในระหว่างกระบวนการนี้มีคุณสมบัติต้านมะเร็ง (antitumor) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรือคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ (Liu et al., 2010) โยชน์ทางด้านอุตสาหกรรมอาหารสามารถประยุกต์ใช้เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickeners) สารเพิ่มความคงตัว (stabilizers) สารช่วยให้เกิดเจล (gelling agents) (Donota et al., 2012) จึงได้พิจารณาคุณสมบัติของถั่วหมักที่มีสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ไปผลิตเป็นเครื่องดื่มเสริมสุขภาพและลดการเติมสารคงตัวในเครื่องดื่ม จึงต้องนำไปทดสอบเบื้องต้นถึงสมบัติทางวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรดที่ผลิตได้ เพื่อการนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีคุณภาพและมีความสม่ำเสมอ นอกจากนี้ได้นำถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อไปแปรรูปเป็นขนมขบเคี้ยว (snackbar) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมทุกเพศทุกวัย ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่ให้ความสนใจในสุขภาพมากขึ้นจึงหันมานิยมบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทธัญพืชมากขึ้น เพราะเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักสดที่ผลิตใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* แต่ยังไม่เป็นที่ยอมรับความนิยมจากผู้บริโภค ดังนั้นการนำผลิตภัณฑ์ถั่วหมักมาพัฒนาแปรรูปเป็นขนมขบเคี้ยว จึงเหมาะสมต่อการแก้ปัญหาทุพโภชนาการ และปัญหาโรคโลหิตจางที่มีสาเหตุมาจากการขาดธาตุเหล็ก ทำให้ผู้ป่วยมีการพัฒนาด้านต่างๆ ของร่างกายช้ากว่าคนปกติ การพัฒนาด้านสติปัญญา การเรียนรู้ ประสิทธิภาพในการทำงานตลอดจนด้านภูมิคุ้มกันโรคต่ำลง ทั้งนี้เพราะในเมล็ดถั่วเหลืองยังอุดมไปด้วยธาตุเหล็ก นอกจากการศึกษาถึงคุณภาพ และความปลอดภัยของเชื้อ รวมถึงฤทธิ์ทางชีวภาพ การนำไปประยุกต์ใช้หมักในถั่วเหลืองและถั่วชนิดอื่นๆ แล้ว ยังครอบคลุมถึงการพัฒนากล้าเชื้อให้สะดวกต่อการใช้งาน การเก็บรักษา และการนำกล้าเชื้อไปประยุกต์เชื้อเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารที่คงคุณค่าทางโภชนาการ ปลอดภัย และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

1.4 ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. การเผยแพร่ในการประชุมวิชาการระดับชาติ จำนวน 3 บทความ
2. การสร้างนักวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาอย่างน้อย 3 คน

ผู้ใช้ประโยชน์จากการวิจัย

1. นักวิชาการที่ทำวิจัยเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก
2. นักวิชาการที่ทำการวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติด้านต่างๆของกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis*
2. กลุ่มประชากรเป้าหมายที่ผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก
3. ผู้บริโภคยอมรับอาหารขบเคี้ยวที่แปรรูปจากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก

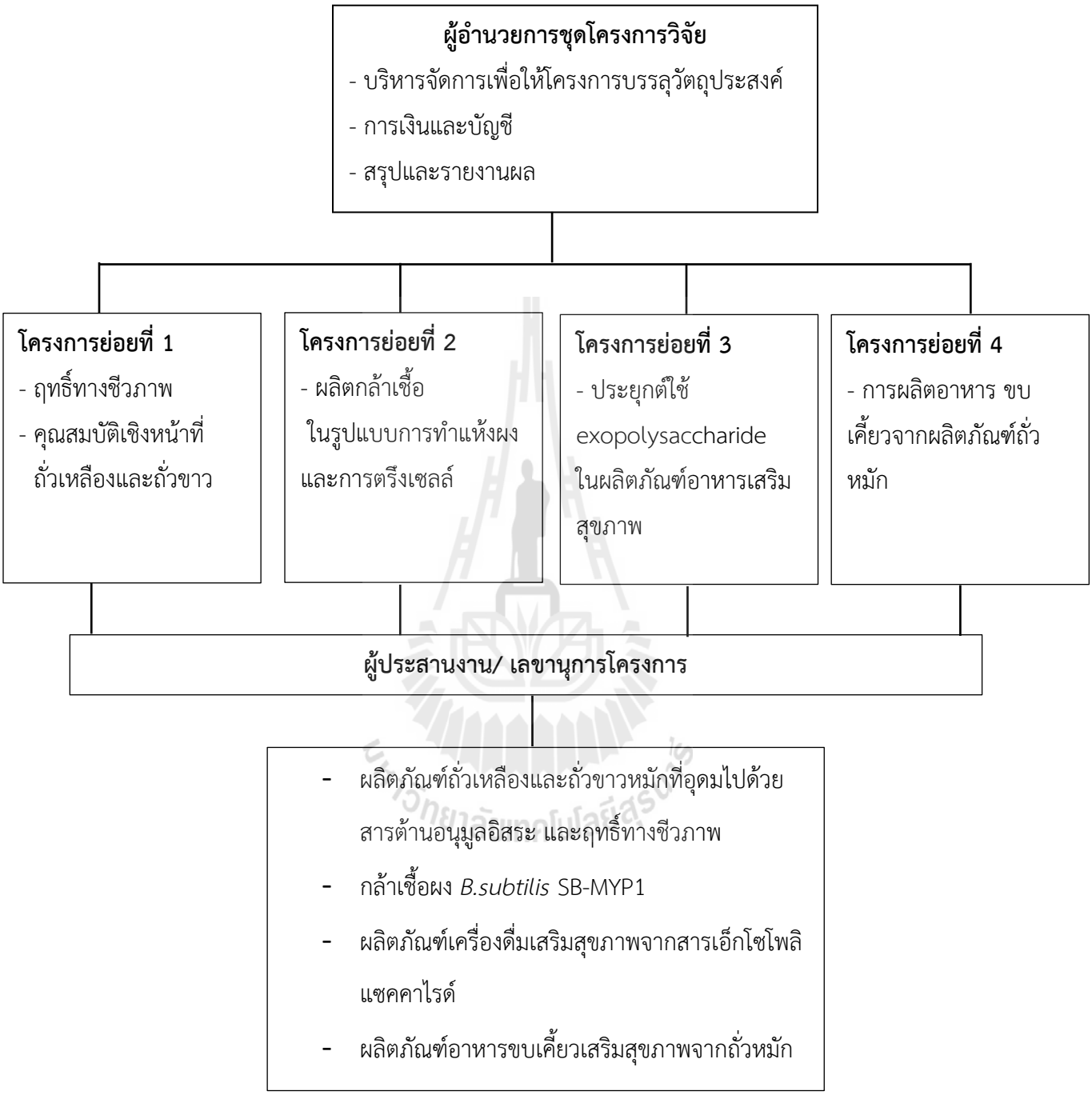
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.5 แผนการบริหารแผนงานวิจัยและแผนการดำเนินงาน และขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนงานวิจัย

ตารางที่ 1 แผนการดำเนินกิจกรรมชุดโครงการวิจัยตลอดทั้งโครงการ

กิจกรรม	ระยะเวลา (เดือนที่)			
	1-6	7-12	13-18	19-24
1. ประชุมหารือพัฒนาโครงการฉบับสมบูรณ์	← →			
2. โครงการย่อยที่ 1-4 รวบรวมข้อมูลปัจจุบันที่เกี่ยวข้อง ได้ข้อเสนอโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์	← →			
3. โครงการย่อยที่ 1 นำเสนอกรรมวิธีการเตรียมสารสกัดจากถั่วเหลืองและถั่วขาว ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่	←	—	—	→
4. โครงการย่อยที่ 2 นำเสนอกรรมวิธีการผลิตกล้าเชื้อในรูปแบบผง	←	—	—	→
5. โครงการย่อยที่ 3 นำเสนอการประยุกต์ใช้ Exopolysaccharide ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม	←	—	—	→
6. โครงการย่อยที่ 4 การศึกษานวัตกรรมการผลิตอาหารขบเคี้ยว จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก	←	—	—	→
7. ประชุมคณะผู้วิจัยเพื่อประเมินผลการดำเนินงานและปรับปรุงแก้ไขการดำเนินงาน			←	→
8. การจัดทำรายงาน				← →

แผนภูมิบริหารการวิจัย



ขั้นตอนการดำเนินงานตลอดแผนการวิจัย

โครงการย่อยที่ 1

เตรียมสารสกัดถั่วเหลืองและถั่วขาวตามวิธีของ รัชฎาพรและ คณะ (2007) เพื่อทำการวิเคราะห์ จากนั้นทำการหมักถั่วเหลืองและถั่วขาวด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 แล้วนำไปศึกษาคุณสมบัติสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดถั่วเหลือง ถั่วขาว และถั่วเหลือง ถั่วขาวที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ดังนี้

1. ศึกษาหาปริมาณ total phenolic โดยวิธี Folin-Ciocalteu method (Prior et al, 2007) เพื่อหาระดับปริมาณ total phenolic ที่สามารถมีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพได้
2. ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay, FRAP assay, และ Scarvenging ability of hydroxyl radical เพื่อกำหนดปริมาณของสารสกัดจากค่า IC_{50} สำหรับเติมในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อแสดงคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ
3. การหาปริมาณ Isoflavone โดยใช้ HPLC ทำตามวิธีของ Punjaisee และคณะ 2011

โครงการย่อยที่ 2

นำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 มาศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อเริ่มต้น โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร NB และ NA นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เวลา 18 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ โดยการ centrifuge ที่ 10000 *g* เป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ที่ได้ด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85% w/v ทำ suspension เชื้อให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ ที่ $10^{9\text{-}10}$CFU/ml จากนั้นนำมาเตรียมหัวเชื้อด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้ การทำแห้งโดยวิธี freeze drier การทำแห้งโดยวิธี spraydrier จะใช้วัสดุที่ทำหน้าที่เป็น carrier และ cryoprotectant จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ maltodextrin, sucrose, skim milk และ soybean flour เพื่อทำการศึกษาดังต่อไปนี้

1. การอยู่รอดของจำนวนเซลล์ก่อนและหลังการเตรียมหัวเชื้อวิธีต่างๆ
2. คุณสมบัติของกล้าเชื้อหลังการเตรียมจากรูปแบบทั้ง 4 วิธี
3. การรอดชีวิตของเชื้อในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

โครงการย่อยที่ 3

คัดแยกสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ออกจากถั่วเหลืองหมัก มาจากการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.* subtilis SB-MYP 1 3 รูปแบบ ได้แก่ กล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP 1 กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour นำสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่แยกได้มาวิเคราะห์สมบัติวิทยากระแสด้วยเครื่อง rheometer และประยุกตใชในผลิตภัณฑเครื่องดื่ม โดยศึกษาสูตรของเครื่องดื่มที่เหมาะสม ทดสอบความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคด้วยวิธีการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบ Hedonic scale scoring test เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑเครื่องดื่มที่มีคุณคาทางโภชนาการจากสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

โครงการย่อยที่ 4

หมักถั่วเหลือง โดยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ระยะเวลาประมาณ 3-4 วัน ทำการตรวจวัดค่าสี กลิ่น วิตามินบี 12 และปริมาณของแคลเซียม (Ca) ฟอสฟอรัส (P) ธาตุเหล็ก (Fe) ทำการตรวจนับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด หลังจากนั้นนำถั่วหมักที่ได้มาบดและคลุกผสมให้เข้ากันกับส่วนผสมของน้ำ น้ำตาลทราย และกลูโคสไซรัป นำมาผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) จัดรูปร่างและตัดให้ได้ขนาดตามต้องการเพื่อพัฒนาผลิตขนมขบเคี้ยว (Snack bar) ให้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

1.6 แผนการสร้างนักวิจัยรุ่นใหม่จากการทำการวิจัยตามแผนงานวิจัย

พัฒนานักวิจัยในระดับบัณฑิตศึกษา จำนวน 3 คน ได้แก่

1) นายฐิติกร มหิสนันท์
2) นางสาวปริยดา สิทธิศาสตร์
3) นางสาวปานชีวา สกุลสุดแสวง

บทที่ 2
สรุปผลการดาเนินงานวิจัย

ผลงานการวิจัยทั้งหมดในโครงการย่อยทั้ง 4 โครงการได้นำมาสรุปไว้ในบทนี้ ซึ่งรายละเอียดต่างๆ ได้รวบรวมและเขียนไว้ในรายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ของแต่ละโครงการย่อย ผลการดำเนินงานและข้อสรุปโดยสังเขปของแต่ละโครงการมีดังต่อไปนี้

2.1 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 1

จากการศึกษาปริมาณของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากถั่วเหลือง ถั่วขาว และคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของถั่วเหลือง ถั่วขาวที่ผ่านการหมัก โดยเตรียมสารสกัดด้วยตัวทำลาย ได้แก่น้ำ และเอทานอล จากการศึกษาพบว่าปริมาณของฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดเอทานอลของถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักมีปริมาณของฟีนอลทั้งหมดสูงสุด (35.02 mg gallic acid equivalent/g extract) รองลงมาได้แก่สารสกัดเอทานอลของถั่วเหลือง สารสกัดน้ำของถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก และสารสกัดน้ำของถั่วเหลือง (29.02 mg gallic acid equivalent/g extract, 16.94 mg gallic acid equivalent/g extract และ 14.43 mg gallic acid equivalent/g extract) ตามลำดับ สารสกัดน้ำของถั่วขาว มีปริมาณฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุด (3.89 mg gallic acid equivalent/g extract) และเมื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay พบว่า สารสกัดเอทานอลของถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดที่ค่า IC_{50} 18.45 mg extract/ml, 4.52 mg extract/ml และ 0.079 mmol Fe^{2+} /g extract ตามลำดับ รองลงมาได้แก่สารสกัดน้ำของถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักและสารสกัดเอทานอลของถั่วเหลือง ส่วนสารสกัดของถั่วขาวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ดังนั้นการสกัดด้วยเอทานอล จึงจัดเป็นสารสกัดที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีปริมาณของฟีนอลทั้งหมด (total phenolic) มากกว่าสารสกัดอื่นๆ และความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากขึ้นอีกด้วย

2.2 ผลการดำเนินงานของโครงการวิจัยที่ 2

การหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และระยะเวลาในการหมัก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยรวมดีกว่าการหมักแบบธรรมชาติ งานวิจัยนี้ได้นำเทคโนโลยีการผลิตกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ให้อยู่ในรูปที่สามารถนำมาใช้งานและควบคุมได้ง่าย

เพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก การผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ครั้งนี้ได้ใช้กระบวนการทำแห้ง 2 ชนิดคือ การอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray dried) และการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง (freeze dried) ซึ่งในการผลิตนี้จะมีปัจจัยในเรื่องอุณหภูมิมาเกี่ยวข้องจึงต้องมีการเติมสารปกป้องเซลล์ที่มีผลช่วยให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นและป้องกันไม่ให้เซลล์ได้รับอันตราย โดยการอบแห้งแบบพ่นฝอยใช้ maltodextrin 20 %(w/v) และ skim milk 50 %(w/v) มีอัตราการอยู่รอดร้อยละ 74.24 และ 91.37 แต่ได้ปริมาณของผงผลิตภัณฑ์ค่อนข้างน้อย เนื่องจากเสียไปในระหว่างกระบวนการผลิต การทำแห้งโดยการระเหิดแห้งมีสารปกป้องจากความเย็นเป็น maltodextrin 10 %(w/v) skim milk 40 %(w/v) sucrose 10 %(w/v) และ soybean flour 10 %(w/v) มีอัตราการอยู่รอดของ กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 84.24 89.02 84.60 และ 91.32 ตามลำดับ คัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตกล้าเชื้อผงและมีความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อในการผลิตถั่วเหลืองหมัก คือกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 จากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze dryer) ได้แก่ กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10 %(w/v) และ กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10 %(w/v) วิเคราะห์คุณสมบัติของการเป็นกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 โดยใช้กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตได้มาหมักถั่วเหลือง ติดตามกระบวนการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และถั่วเหลืองหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ปัจจัยที่ใช้ในการติดตามกระบวนการหมักได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมัก การผลิตเอนไซม์โปรติเอส และอะไมเลส พบว่า *B. subtilis* SB-MYP1 และ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour มีความสม่ำเสมอในระหว่างระยะเวลาการหมัก และมีประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตเอนไซม์ที่ดี ในขณะที่การหมักโดยใช้กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin 10 %(w/v) ไม่มีความสม่ำเสมอ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 อยู่ในสภาวะที่ถูกห่อหุ้มด้วย maltodextrin และ soybean flour จะมีอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ช้ากว่ากล้าเชื้อสดที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทำแห้ง เนื่องจากในกระบวนการหมักของกล้าเชื้อเมื่อทำการเติมเชื้อ (inoculum) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือวัตถุดิบแล้ว กล้าเชื้อสดจะมีการเจริญตามปกติแต่กล้าเชื้อที่ถูกห่อหุ้มจะมีระยะเวลาในการปลดปล่อยเซลล์และการเจริญที่ใช้เวลามากกว่า ทั้งนี้ถึงแม้ว่าการหมักที่ใช้กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10 %(w/v) จะใช้เวลานานกว่า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอเช่นเดียวกันกับการใช้กล้าเชื้อสด ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นกล้าเชื้อเพื่อการผลิตถั่วเหลืองหมัก เพื่อให้มีคุณค่าทางโภชนาการทางอาหารและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นำกล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10 %(w/v) และ กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10 %(w/v) มาหาอายุการเก็บรักษาพบว่าจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และ soybean flour ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยพิจารณาจากปริมาณความชื้นที่เพิ่มมากขึ้น และการลดจำนวนลงของ *B. subtilis* SB-MYP1 พบว่ากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และ

กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin มีปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้นยังไม่เกินร้อยละ 7 ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ยังเป็นผงแห้งอยู่ และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือยังมีปริมาณที่เพียงพอต่อการใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักต่อไป สรุปได้ว่ากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin มีอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เทคโนโลยีในการผลิตกล้าเชื้อผงให้อยู่ในรูปที่สามารถใช้งานได้ง่าย เพื่อควบคุมกระบวนการหมักให้มีประสิทธิภาพ ทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการเก็บรักษากล้าเชื้อให้อยู่นานมากยิ่งขึ้น

จากงานวิจัยนี้พบว่า 50%(w/v) skim milk ด้วยวิธี Spray dry และ 10%(w/v) soybean flour ด้วยวิธี Freeze dry มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เท่ากันคือ ร้อยละ 91.37 แต่ในงานวิจัยนี้ได้เลือก 10%(w/v) soybean flour ด้วยวิธี Freeze dry มาใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นกล้าเชื้อหมักถั่วเหลือง เพราะวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักคือ ถั่วเหลือง ซึ่งมีความเหมาะสมกับสารปกป้องที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อผง ในขณะที่ Skim milk ไม่มีความเหมาะสมต่อการนำมาหมักถั่วเหลือง เพราะอาจมีการรบกวนกระบวนการหมักด้วยคุณสมบัติที่แตกต่างทำให้เกิดความเสียหายของผลิตภัณฑ์ได้

2.3 ผลการดำเนินงานโครงการวิจัยที่ 3

ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพจากสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่นำสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 เก็บรักษาใน 3 รูปแบบ ทั้งในรูปแบบกล้าเชื้อสด กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin กล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบจะทำให้ได้สารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่มีคุณลักษณะแตกต่างกันไป ซึ่งการศึกษาสมบัติวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์จะทำให้ทราบพฤติกรรมการไหล และสมบัติทางไดนามิกส์ ว่าสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์มีสมบัติวิทยากระแสที่เหมาะสม และมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสารเพิ่มความคงตัวที่ใช้ในเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพหรือไม่ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่ได้มีคุณภาพสม่ำเสมอ มีความคงตัว ไม่ตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ ถือเป็นคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีลักษณะการแขวนลอยของสาร ซึ่งทำการทดสอบสมบัติวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ พบว่าตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 ที่ความถี่ต่ำมีค่า G′ เริ่มต้นต่ำกว่าค่า G″ แต่เมื่อความถี่เพิ่มขึ้นตัวอย่างมีค่า G′ สูงกว่าค่า G″ และมีค่าสูงขึ้นเรื่อยๆ แปรผันตามความถี่ที่เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 เริ่มต้นมีคุณสมบัติเป็นของเหลวหนืด (viscous) และต่อมาจึงแสดงคุณสมบัติความเป็นของแข็งยืดหยุ่น (elastic) อย่างสม่ำเสมอไปจนถึงความถี่สูงสุดที่ 100 เฮิร์ท โดยบน

เส้นกราฟมีจุดตัดของ G′ และ G″ ซึ่งเป็นจุดที่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของสารไปเป็นเจล (gel-point) พฤติกรรมการไหลเช่นนี้ถือว่าจัดอยู่ในกลุ่มของสารที่มีโครงสร้างเป็นเจลแบบอ่อน (weak gel structure) สำหรับสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin พบว่ามีค่า G′ สูงกว่าค่า G″ ในทุกๆความถี่อย่างสม่ำเสมอไปจนถึงความถี่สูงสุดที่ 100 เฮิร์ท แสดงถึงคุณสมบัติความเป็นของแข็งยืดหยุน (elastic) ซึ่งถือว่ามีความหนืดและมีความเป็นเจลแบบอ่อน ความหนืดที่เกิดขึ้นจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น จึงไม่เกิดการตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ นอกจากนั้นค่า G′ ของสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ทั้ง 3 ตัวอย่าง ยังมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ แสดงถึงความเสถียรในการเป็นของแข็งยืดหยุ่นของสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ดังนั้นการใช้สารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากกล้าเชื้อสดจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวอย่างสม่ำเสมอและมีความเสถียรตลอดอายุการเก็บรักษา ทั้งนี้ผลการวิเคราะห์ค่า G′ และ G″ ที่ได้สอดคล้องกับคา loss tangent (tan **δ**) ที่แสดงสัดส่วนของค่า viscous modulus (G″) ต่อค่า elastic modulus (G′) ซึ่งตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสดมีค่า loss tangent สูงที่สุด และลดลงเรื่อยๆ เมื่อความถี่เพิ่มขึ้น โดยค่า loss tangent ที่ได้มีค่ามากกว่า 1 ในช่วงเริ่มต้นแสดงวาวัสดุมีลักษณะการไหลหนืดมากกว่าการยืดหยุน แต่เมื่อความถี่เพิ่มขึ้นพบว่าตัวอย่างมีค่า loss tangent ลดลงน้อยกว่า 1 แสดงวาวัสดุมีลักษณะการยืดหยุ่นมากกว่าการไหลหนืดส่วนตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin มีค่า loss tangent ต่ำกว่าและน้อยกว่า 1 แสดงว่าตัวอย่างทั้ง 2 มีลักษณะเป็นของแข็งยืดหยุ่นมากกว่าตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด โดยค่า loss tangent ที่ได้นี้สอดคล้องกับค่า G′ โดยเมื่อตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสดมีค่า loss tangent สูงที่สุด ค่า G′ จะต่ำที่สุดตามความสัมพันธ์ของ loss tangent กับค่า G′ นอกจากนี้ค่าความหนืดเชิงซ้อนหรือ complex viscosity (**η***) ที่อธิบายถึงลักษณะการไหลของสาร แสดงให้เห็นว่าสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีลักษณะการไหลแบบ shear thinning (pseudoplastic) ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับการไหลแบบ Non-newtonian liquid ที่มีลักษณะเป็นของไหลที่มีค่าความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการเฉือน หรือยิ่งกวนเร็วยิ่งไหลง่าย แต่จะไม่ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ของไหลได้รับความเค้นเฉือน ดังนั้นจากสมบัติวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซกคาไรด์ในด้านของความเป็นelastic modulus (G′) viscous modulus (G″) loss tangent (tan **δ**) และ complex viscosity (**η***) ที่กล่าวมาแสดงถึงคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer) ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพได้เป็นอย่างดี ซึ่งการนำสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในการผลิต

เครื่องดื่มเสริมสุขภาพ จะผ่านขั้นตอนการทดลองหาสูตรที่เหมาะสมของผลิตภัณฑ์ แล้วทำการทดสอบความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ทั้ง 4 สูตร ซึ่งผลิตภัณฑ์สูตรที่ 4 ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคสูงที่สุด โดยผู้ประเมินให้การยอมรับในด้านสี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกหลังการกลืน และความชอบโดยรวมในช่วงคะแนนระหว่าง 6.0-8.0 คะแนน นอกจากนี้เมื่อนำผลิตภัณฑ์สูตรที่ 4 ที่ผลิตด้วยสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ใน 3 รูปแบบ ได้แก่ สารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด สารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour ไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์พบว่าเครื่องดื่มจากสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด (BF) มีปริมาณโปรตีนสูงสุดเมื่อเทียบกับเครื่องดื่มจากสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin (BM) และ soybean flour (BS) ส่วนปริมาณใยอาหารพบว่า BM มีปริมาณใยอาหารสูงที่สุด และปริมาณเถ้าพบว่า BS มีปริมาณเถ้าสูงที่สุด ทั้งนี้จะเห็นว่าปริมาณสารอาหารที่ตรวจวิเคราะห์ได้จากเครื่องดื่มที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบมีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกันไป อาจขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของกล้าเชื้อที่ใช้ในการผลิตถั่วหมักที่เป็นรูปแบบกล้าเชื้อสด และกล้าเชื้อผง ทำให้การผลิตสารอาหารต่างๆ รวมถึงสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้มีคุณลักษณะแตกต่างกันไปทั้งในด้านคุณสมบัติวิทยากระแสและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์

2.4 ผลการดำเนินงานโครงการวิจัยที่ 4

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก เป็นหนึ่งในโครงการวิจัยภายใต้ชุดโครงการ บาซิลัส สับทิลิส ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วหมักเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ ซึ่งชุดโครงการนี้เป็นผลการวิจัยต่อเนื่องจากโครงการการลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักโดยการใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นกล้าเชื้อในการหมัก นำมาพัฒนาต่อยอดเป็นกล้าเชื้อผงหรืออยู่ในรูปแบบที่สามารถเก็บรักษาได้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้งาน เป็นหนึ่งในผลการวิจัยภายใต้ชุดโครงการดังกล่าว โดยผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักเกิดจากการนำผลการวิจัยภายใต้ชุดโครงการเดียวกันที่ได้ข้อสรุปว่ากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour ซึ่งกล้าเชื้อทั้ง 2 รูปแบบ นี้ได้ผ่านการวิจัยแล้วพบว่าเมื่อนำไปทำการหมักถั่วเหลือง จะส่งผลให้กระบวนการหมักมีความสม่ำเสมอและมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและอะไมเลส เช่นเดียวกับกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 มาทำการหมักถั่วเหลือง และนำถั่วหมักจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ที่มีคุณค่าทาง

โภชนาการสูงและเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งจากผลการทดลองและพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ได้สูตรต้นแบบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก มีส่วนผสมที่ประกอบด้วย fermented soybean 30% (w/w), sucrose 20%(w/w), soybean flour 10%(w/w), salt 0.50%(w/w) งาขาว 1.00%(w/w) งาดำ 1.00%(w/w) และน้ำสะอาด 37.50%(w/w) ผ่านกรรมวิธีในการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) ที่มีการกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่อง คือ ระยะห่างของลูกกลิ้ง 3 มิลลิเมตร ระยะห่างของลูกกลิ้งกับใบมีด 1 มิลลิเมตร (โดยประมาณ) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบ 0.54 รอบ/นาที จะได้ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ โดยที่ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ในรูปแบบต่างๆ เมื่อทำการวิเคราะห์ความปลอดภัยต่อผู้บริโภค คุณค่าทางโภชนาการและการยอมรับของผู้บริโภค ได้ข้อสรุปว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวที่หมักด้วยกล้าสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F), กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin (SN-M) และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour (SN-S) มีปริมาณแคลเซียม (Ca) เท่ากับ 1,577.00, 1,738.50 และ 1,997.50 mg/kg ปริมาณเหล็ก (Fe) เท่ากับ 40.21, 45.41 และ 41.26 mg/kg ปริมาณฟอสฟอรัส (P) เท่ากับ 2,619.00, 3,052.50 และ 3,091.50 mg/kg และมีปริมาณวิตามินบีสิบสอง (B12) เท่ากับ 0.38, <0.1 และ <0.1 μg/100g ตามลำดับ และทำการตรวจวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ สำหรับการหาอายุการเก็บตามจากผลการทดลองได้พิจารณาตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าแผ่นที่มีการติดตามปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซิน ได้ข้อสรุปว่าผลิตอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักได้พิจารณาอายุการเก็บที่ยึดตามเกณฑ์ความเสี่ยงสูงสุดสารอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้พบได้ไม่เกิน 20 ppb พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ มีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศ โดยผลิตอาหารขบเคี้ยวที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีอายุการเก็บรักษา SN-F = 119, SN-M = 118 และ SN-S = 103 วัน เมื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour มากที่สุด

ดังนั้นจากผลการวิจัยพัฒนาเพื่อหาสูตรต้นแบบในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ถั่วหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพที่ง่ายต่อการบริโภคและเป็นที่ยอมรับมากกว่าถั่วหมักได้ว่าการกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour เป็นที่ยอมรับและมีความเหมาะสมต่อการนำมาหมักถั่วเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการประกอบไปด้วยแคลเซียม (Ca) 1,997.50 mg/kg เหล็ก (Fe) 41.26 mg/kg และฟอสฟอรัส 3,091.50 mg/kg ซึ่งมี

บทบาทสำคัญในกระบวนเมทตาบอลิซึมภายในเซลล์ เสริมสร้างกระดูก พร้อมกันนั้นธาตุเหล็กมีผลต่อกระบวนการสร้างฮีโมโกบินในเม็ดเลือดแดง และเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงสุดการผลิตภัณฑ์ดังกล่าวควรบรรจุด้วยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่ช่วยชะลอทั้งปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซินให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

บทที่ 3
การประมวลและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ผลการวิจัยของแต่ละโครงการมุ่งเน้นที่การพัฒนา การพิสูจน์ที่เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์และความปลอดภัยของการนำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ไปใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก รวมถึงความเป็นไปได้ในการนำกล้าเชื้อหมักถั่วชนิดอื่นๆ ได้แก่ ถั่วขาว ดังนั้นชุดโครงการวิจัยนี้ซึ่งประกอบด้วยโครงการวิจัยย่อยทั้งหมด 4 โครงการ เป็นการวิจัยที่มุ่งเน้นไปที่การพัฒนาศักยภาพ คุณภาพและความปลอดภัย ตลอดจนการเก็บรักษากล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ให้คงคุณภาพและความสม่ำเสมอเมื่อมีการนำไปใช้ในการหมักทุกครั้ง โดยแบ่งผลการประมวลและวิเคราะห์การทดลอง เป็น 3 ลักษณะ ดังนี้

3.1 การประเมินคุณสมบัติฤทธิ์ทางชีวภาพและการนำไปใช้กับวัตถุดิบอื่น

จากผลการทดลองของโครงการวิจัยย่อยที่ 1 (ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมัก) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วเหลืองและถั่วขาวที่เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเชิงหน้าที่ ที่มีอยู่อย่างแพร่หลายในเกือบทุกประเภท โดยวัตถุดิบดังกล่าวประกอบไปด้วยสารพฤษเคมี ได้แก่ ฟีนอลทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เป็นสารประกอบที่ดีต่อสุขภาพ นอกจากนั้นในถั่วเหลืองพบว่ามีเดอิสซีนและเจนิสทีน เป็นสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จากที่กล่าวมาแล้วนั้นสามารถพบได้ในพืชตระกูลถั่วทั่วไป ซึ่งหากนำมาพัฒนาเพื่อศึกษาและเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ และฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการอาศัยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 เข้ามามีบทบาทสำคัญที่ทำให้เกิดกระบวนการหมักในสภาวะ alkaline fermentation กล้าเชื้อนี้มีคุณสมบัติในการผลิตสารเมทาบอไลท์ที่สำคัญ เช่น มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง รวมถึงเอนไซม์ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อนี้จะไปย่อยสารประกอบต่าง ๆ ในถั่วให้ได้เป็นสารต่างๆ เช่น dicarbonyl compound และ free amino acid เป็นต้น ดังนั้นกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ถือได้ว่าเป็นวิธีการหนึ่งในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนา และเป็นการสกัดเอาสารสำคัญ หรือ สารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่อยู่ในถั่วเหลือง และถั่วชนิดอื่นๆ จึงมีความเป็นไปได้ในการนำเอากล้าเชื้อดังกล่าวนี้ไปใช้ในการหมักวัตถุดิบอื่นๆ ได้แก่ ถั่วขาว ซึ่งเป็นพืชตระกูลเดียวกับถั่วเหลือง ผลการจากนำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ไปใช้หมักถั่วเหลืองและถั่วขาวพบว่าฟีนอลทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่สกัดจากถั่วทั้งสองชนิดที่ผ่านการหมักมากกว่าถั่วที่ไม่ผ่านการหมัก

3.2 การพัฒนากล้าเชื้อและการเก็บรักษา

โครงการย่อยที่ 2 (เทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก) เป็นโครงการที่มุ่งเน้นการเก็บรักษากล้าเชื้อในรูปแบบผง เพื่อให้ได้ carrier ที่เหมาะสมสำหรับกล้าเชื้อและศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อเพื่อนำไปใช้ในการหมักถั่ว จากที่กล่าวในข้างต้นกลาเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 มีบทบาทสำคัญในการทำผลิตภัณฑถั่วหมัก เปนจุลินทรียที่จัดอยูในกลุมแกรมบวก รูปแทง มี flagella แบบ peritrichous เจริญไดดีที่ pH 5.5-8.5 ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobes) หรือ มีอากาศเล็กนอย (facultative anaerobes) สราง catalase มี endospore ที่ทำใหมีคุณสมบัติในการทนตอสภาวะแวดลอมที่ไมดีได ไมทำใหเกิดโรค สราง hydrolytic enzyme ที่ย่อยสลาย polysaccharide, nucleic acid และ lipid โดยใชสารดังกลาวเปนแหลงคารบอนและตัวใหอิเล็กตรอน มีออกซิเจนเปนตัวรับอิเล็กตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อนี้ในการหมักคือ การปลอยเอนไซมโปรติเอสออกมายอยโปรตีน และอะไมเลสย่อยคาร์โบไฮเดรต ทำใหชวยปรับปรุงองคประกอบที่ยอยไดยากใหอยูในรูปที่ยอยไดงายและเปนประโยชนมากขึ้น (Feng et al., 2007) นอกจากนี้ *B. subtilis* SB-MYP1 ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร ได้แก่ *S. aureus* TISTR 118 รวมถึงกล้าเชื้อนี้มีคุณสมบัติเด่นที่ช่วยในการลดกลิ่น และพบสาร 2-heptanone และ benzaldehyde ที่มีมากกว่าถั่วเหลืองที่หมักโดยไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ซึ่งสารดังกล่าวนี้เป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นหอม ดังนั้นเพื่อให้เกิดการนำไปใช้งานง่ายและจะต้องยังคงคุณสมบัติของกล้าเชื้อนี้ จำเป็นจะต้องอาศัยกรรมวิธีการผลิตและ carrier ที่เหมาะสม โดยหลักการในการคัดเลือกกรรมวิธีในการผลิตและ carrier ที่เหมาะสม นั้นจะพิจารณาจากวัตถุประสงค์การนำไปใช้งาน ชนิดของวัตถุดิบที่จะนำไปหมัก อายุการเก็บรักษา การยอมรับของผู้ผลิตและผู้บริโภค โดยวิธีการผลิตกล้าเชื้อผงที่นำมาใช้ ได้แก่ การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) และการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง (freez Dryer) ทั้งสองวิธีการนี้สามารถผลิตกล้าเชื้อผงได้เหมือนกัน แต่มีความแตกต่างกัน ดังนั้นกระบวนการของ Spray dryer อากาศจะถูกดูดผ่าน filter และผ่านตัวให้ความร้อนจากนั้นจึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง จากนั้นสารละลายของเหลวจะถูกดูดโดยปั๊มผ่านอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดละอองฝอยและสัมผัสกับอากาศร้อนทำให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็ว ทำให้กลายเป็นผงกล้าเชื้อในสุดท้าย กรณีการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง หลักการทำงานของเครื่องนี้ใช้ในการทำแห้งตัวอย่างที่ต้องการรักษาคุณสมบัติตัวอย่างให้คงสภาพเดิม ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และขบวนการอื่นๆ ที่ทำให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพ ซึ่งเป็นการดึงน้ำออกจากตัวอย่าง โดยการทำให้ตัวอย่างเย็นจนเป็นเยือกแข็ง จากนั้นไอน้ำในตัวอย่างจะถูกดึงไปควบแน่นที่ Cooling condenser ภายใต้ความดันต่ำและอุณหภูมิต่ำ ทำให้ตัวอย่างแห้ง เมื่อเก็บตัวอย่างออกจากการทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze-Dryer ต้องเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดและดูดความชื้นทันที มิฉะนั้นตัวอย่างอาจถูกดูดกลับความชื้นในอากาศได้อีก ทั้งสองวิธีการสามารถทำแห้งกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ carrier ที่เลือกใช้ ซึ่ง

โครงการวิจัยได้เลือกใช้ maltodextrin 10,15, 20 %(w/v) soybean flour 10,15, 20 %(w/v) Skim milk 40,45,50 %(w/v) และ sucrose 10,15,20 %(w/v) พบว่าการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อสูงกว่าการอบแห้งแบบพ่นฝอย และพบว่าสารปกป้องความเย็น soybean flour 10 %(w/v) มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อร้อยละ 91.32 ซึ่งสูงกว่า maltodextrin ที่เป็นสารปกป้องความเย็นทางการค้า ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการนำสารปกป้องความเย็น soybean flour ที่ทำจากถั่วเหลืองนำกลับไปใช้ในการหมักวัตถุดิบที่เหมือนกัน และยังพบว่ากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour 10%(w/v) มีอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน และยังคงคุณสมบัติที่ดีของกล้าเชื้อนี้ได้เช่นกับการใช้กล้าเชื้อสดในการหมัก

3.3 การพัฒนาและแปรรูปถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1

ผลจากการดำเนินงานวิจัยโครงการย่อยที่ 2 ทำให้ได้กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และ soybean flour ที่สามารถนำไปใช้ในการหมักได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความสม่ำเสมอ และปลอดภัย ทั้งนี้เพื่อให้เกิดการนำไปใช้ประโยชน์อย่างสูงสุด จึงเกิดการนำกล้าเชื้อที่ได้จากการพัฒนาเป็นกล้าเชื้อผงไปใช้ประโยชน์ โดยการนำถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อนี้ไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งต้องคงคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ แร่ธาตุ สารเมทาบอไลท์ที่สำคัญ รวมถึงเป็นทางเลือกให้กับกลุ่มคนรักสุขภาพ คนสูงอายุ และผู้บริโภคมังสวิรัต ดังนั้นในการพัฒนาแปรรูปผลิตภัณฑ์จึงยังคงความเป็นผลิตภัณฑ์ที่คงคุณประโยชน์รวมถึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถบริโภคได้ง่ายเหมาะกับผู้บริโภคทุกวัย ดังเช่น โครงการย่อยที่ 3 (สมบัติวิทยากระแสและการประยุกต์ใช้เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อบาซิลัส สับทิลิสในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ) เป็นงานวิจัยที่นำประโยชน์จากสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อมาใช้ประโยชน์ กล่าวคือสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์เกิดจากการยอยคาร์โบไฮเดรตในถั่วเหลือง และหลั่งสารดังกลาวออกมาจากเชื้อจุลินทรียโดยตรง สารดังกลาวมีลักษณะข่นหนืดทำให่ผลิตภัณฑถั่วหมักมีความเหนียวหนืด ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้สารโพลิแซคคาไรด์ เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickeners) สารเพิ่มความคงตัว (stabilizers) สารช่วยให้เกิดเจล (gelling agents) (Donot et al., 2012) นอกจากนี้สารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์มีคุณสมบัติต้านมะเร็ง (antitumor) ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) หรือคุณสมบัติการเป็น พรีไบโอติกส์ (Liu et al., 2010) จากที่กล่าวมาแล้วในข้างต้นจึงนำเอาสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ ที่มีอยู่ในถั่วหมักมาพัฒนาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพ โดยเครื่องดื่มที่พัฒนาขึ้นนี้ปราศจาการเติมสารคงตัว แต่มีการใช้ประโยชน์จากสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ทำหน้าที่เป็นสารคงตัวในผลิตภัณฑ์แทน ซึ่งโครงการวิจัยย่อยนี้ได้ทำการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มได้สำเร็จ เครื่องดื่มที่ได้จากโครงการวิจัยนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่นำสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากการหมักถั่วเหลืองด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP

1 ที่เก็บรักษาใน 3 รูปแบบ ทั้งในรูปแบบกล้าเชื้อสด กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และ *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour กล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบจะทำให้ได้สารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่มีคุณลักษณะแตกต่างกันไป เมื่อทำการทดสอบสมบัติวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ พบว่าตัวอย่างสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 มีพฤติกรรมการไหลที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารที่มีโครงสร้างเป็นเจลแบบอ่อน (weak gel structure) สำหรับสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin แสดงถึงคุณสมบัติความเป็นของแข็งยืดหยุ่น (elastic) ซึ่งถือว่ามีความหนืดและมีความเป็นเจลแบบอ่อน ความหนืดที่เกิดขึ้นจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวและเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น จึงไม่เกิดการตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ แสดงให้เห็นว่าสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีลักษณะการไหลแบบ shear thinning (pseudoplastic) ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับการไหลแบบ Non-newtonian liquid ที่มีลักษณะเป็นของไหลที่มีค่าความหนืดลดลงเมื่อเพิ่มอัตราการเฉือน หรือยิ่งกวนเร็วยิ่งไหลง่าย แต่จะไม่ขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ของไหลได้รับความเค้นเฉือน จากผลการทดลองในโครงการวิจัยย่อยที่ 3 แสดงถึงคุณสมบัติที่เหมาะสมในการใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer) ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เมื่อทราบถึงคุณสมบัติของสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ แล้วได้มีการทดสอบความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ซึ่งผลิตภัณฑ์สูตรที่ 4 ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคสูงที่สุด นอกจากนี้เมื่อนำผลิตภัณฑ์สูตรที่ 4 ที่ไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ ผลจากโครงการวิจัยย่อยที่ 3 (สมบัติวิทยากระแสและการประยุกต์ใช้เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อบาซิลัส สับทิลิสในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ) เป็นเพียงผลิตภัณฑ์ต้นแบบในการนำประโยชน์จากกล้าเชื้อไปใช้ในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการคิดค้นและพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภค ผู้วิจัยจึงคิดค้นการนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักมาพัฒนาเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยว (Snack bar) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากผู้บริโภคทุกเพศทุกวัยสามารถบริโภคได้ จึงเกิดเป็นงานวิจัยดังโครงการวิจัยย่อยที่ 4 (การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก) การแปรรูปขนมขบเคี้ยว (snackbar) จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer หรือ Roller dryers) ถั่วเหลืองหมักที่นำมาแปรรูปในโครงการวิจัยนี้ ได้นำกล้าเชื้อผงที่ผลิตได้จากโครงการวิจัยย่อยที่ 2 มาใช้ในกระบวนการหมักได้แก่ กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour ซึ่งคุณสมบัติที่ผ่านการทดสอบแล้วว่ายังคงคุณสมบัติเช่นเดียวกับกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 มาทำการหมักถั่วเหลือง จากนั้นนำถั่วหมักจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์

อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ที่จะต้องมีคุณค่าทางโภชนาการและเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ผลจากการพัฒนาแปรรูปผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ได้ข้อสรุปว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวที่หมักด้วย กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour เป็นที่ยอมรับและมีความเหมาะสมต่อการนำมาหมักถั่วเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการประกอบไปด้วย แคลเซียม (Ca) 1,997.50 mg/kg เหล็ก (Fe) 41.26 mg/kg และฟอสฟอรัส 3,091.50 mg/kg นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยล์มีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 4
สรุปรวมผลงานวิจัย

4.1 สรุปรวมผลงานวิจัย

ผลสรุปของชุดโครงการวิจัยบาซิลัส สับทิลิส ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วหมักเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ นี้สามารถนำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ไปใช้ในกระบวนการหมักถั่วเหลือง ตลอดจนถั่วขาวและพืชตระกูลถั่วชนิดอื่นๆ โดยกล้าเชื้อบริสุทธิ์นี้ ทำให้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักมีความสม่ำเสมอ ลดระยะเวลาในการหมัก สามารถนำไปขยายขนาดการหมักในระดับอุตสาหกรรมได้ และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ส่งเสริมการผลิตสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้ภายใต้กระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อนี้ในสภาวะ alkaline fermentation กล้าเชื้อจะผลิตสารเมทาบอไลท์ที่สำคัญที่มีผลต่อการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค ผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่สามารถย่อยโปรตีนในถั่วเหลือง รวมถึงเอนไซม์ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อนี้จะไปย่อยสารประกอบต่างในถั่วให้ได้เป็นสารต่างๆ เช่น dicarbonyl compound และ free amino acid เป็นต้น รวมถึงฟลาโวนอยด์ ได้แก่ เดอิสซิน และเจนิสทีน ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีผลเพิ่มฮอร์โมนเพศหญิงในวัยหมดประจำเดือน ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดถั่วเหลืองหมักจึงเป็นอาหารเชิงหน้าที่ ที่ช่วยป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่สำคัญในกลุ่มผู้สูงอายุ ได้แก่ กลุ่มโรคหัวใจและโรคเลือด โดยมีผลช่วยลดปริมาณคลอเลสเตอรอลในเลือด โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง ช่วยบรรเทาอาการของหญิงวัยหมดประจำเดือน และยังมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จากผลการทดลองทั้งหมดเห็นได้ว่าถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 จะสามารถสกัดและให้สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวได้มากกว่าถั่วที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งจากผลการวิจัยชี้ให้เห็นถึงคุณประโยชน์ที่สำคัญเชิงหน้าที่แล้ว ชุดโครงการวิจัยนี้ยังได้ทำการพัฒนาให้สามารถนำไปใช้งานได้สะดวก ปลอดภัย และสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลายและยังคงคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งทำการพัฒนาและผลิตกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ให้อยู่ในรูปแบบผงที่เป็นที่ยอมรับในอุตสาหกรรม มีอายุการเก็บ และยังคงคุณสมบัติเด่นของกล้าเชื้อนี้ ได้แก่ คุณสมบัติในการลดกลิ่น ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ลดระยะเวลาในการหมัก ผลิตเอ็นไซม์โปรติเอสและอะไมเลส ซึ่งจากผลการทดลองสรุปได้ว่ากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10%(w/v) และ soybean flour10%(w/v) มีคุณสมบัติทั้งทางด้านกายภาพ ชีวภาพ และเคมี ที่ดีที่สุด และสามารถนำไปใช้ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองที่ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เหมือนกับการใช้กล้าเชื้อสดทุกประการ และเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดจึงนำกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%(w/v) และ soybean flour10%(w/v) ไปใช้ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองเพื่อการ

แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ ได้แก่ เครื่องดื่ม และอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ (snack bar) จากการทดลองได้ว่ากล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้ง 3 รูปแบบสามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม และอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ ได้โดยทำการศึกษาคุณสมบัติวิทยากระแสของสารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ เพื่อทราบคุณสมบัติและความเหมาะสมของการนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเสริมสุขภาพ ผลการวิเคราะห์พบว่าสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด กล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10%(w/v) และ soybean flour10%(w/v) แสดงคุณสมบัติความเป็นของแข็งยืดหยุนอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งถือว่าเป็นลักษณะที่มีความหนืดและเป็นเจลแบบอ่อน ความหนืดที่เกิดขึ้นจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว และเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น จึงไม่เกิดการตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ ดังนั้นการใช้สารเอ็กโซโพลิแซคคาไรด์ที่ได้จากกล้าเชื้อจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวอย่างสม่ำเสมอและมีความเสถียรตลอดอายุการเก็บรักษา นอกจากยังพบว่าสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีลักษณะใกล้เคียงกับการไหลแบบ Non-newtonian liquid (ซึ่งคุณสมบัติด้านพฤติกรรมการไหล สมบัติทางไดนามิกส์ที่กล่าวมามีความคล้ายคลึงกับคุณสมบัติวิทยากระแสของสารเพิ่มความคงตัวที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม) ถือเป็นคุณภาพที่ดีของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนี้ยังได้รับการทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งผู้บริโภคให้การยอมรับทั้งในด้านสี กลิ่น รสชาติ ความรู้สึกหลังการ เมื่อนำไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่าเครื่องดื่มจากสารเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อยังคงคุณค่าทางโภชนาการ นอกจากผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแล้วยังมีการนำถั่วเหลืองหมักจากกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้ง 3 รูปแบบ ไปผลิตเป็นอาหารผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ (snackbar) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากผู้บริโภคทุกเพศทุกวัยสามารถบริโภคได้ ได้สรุปว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour เป็นที่ยอมรับและมีความเหมาะสมต่อการนำมาหมักถั่วเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการประกอบไปด้วย แคลเซียม (Ca) 1,997.50 mg/kg เหล็ก (Fe) 41.26 mg/kg และฟอสฟอรัส 3,091.50 mg/kg ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนเมทตาบอลิซึมภายในเซลล์ เสริมสร้างกระดูก พร้อมกันนั้นธาตุเหล็กมีผลต่อกระบวนการสร้างฮีโมโกบินในเม็ดเลือดแดง และเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงสุดการผลิตภัณฑ์ดังกล่าวควรบรรจุด้วยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่ช่วยชะลอทั้งปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซินให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

4.2 การศึกษาวิจัยเพิ่มเติม

จากการศึกษาวิจัยในชุดโครงการนี้ ผู้วิจัยพิจารณาเห็นว่ายังมีประเด็นสำคัญอื่นๆ ที่จำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

1) การทดสอบการใช้กล้าเชื้อในรูปแบบแช่งแข็งหลังการเก็บรักษานั้น เมื่อขยายขนาดการผลิตในระดับ lab scale จะยังคงแสดงคุณสมบัติของกล้าเชื้อได้สม่ำเสมอหรือไม่
2) คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์แปรรูปถั่วเหลืองจากการใช้กล้าเชื้อที่เก็บไว้นานกว่า 1 ปี จะยังคงทำหน้าที่ผลิตสาระสำคัญ และคุณภาพผลิตภัณฑ์ไม่เปลี่ยนแปลงจากกล้าเชื้อสด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

ปิยะวรรณ กาสลัก และ รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. (2554). การพัฒนาวิธีการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่มีคุณสมบัติในการช่วยลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของถั่วเหลืองหมัก

Donota, F., Fontana, A., Baccou, J.C. and Schorr-Galindo, S. (2012). Microbial exopolysaccharides: Main examples of synthesis, excretion, genetics and extraction. Carbohydrate Polymers. 87:951– 962.

Feng, J., et al. (2007). Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets. Dig Dis Sci. 52: 1845-1850.

Liu, C., Lu, J., Lu, L., Liu, Y., Wang, F., & Xiao, M. (2010). Isolation, structural characterization and immunological activity of an exopolysaccharide produced by Bacillus licheniformis 8-37-0-1. Bioresource Technology, 101(14), 5528–5533.

Punjaisee C, Chayasut C, Chansakaow S, Tharata S, Visessanguan W and Punjaisee S. (2011). 8-hydroxygenistein formation of soybean fermented with *Aspergillis oryzae* BCC 3088. African journal of Agricultural Reaearch. 6(4): 785-789.

Tajima, T. (2003). Processing and Utilization of Legumes [On-line]. Available: http://www.apo-tokyo.org/00e-books/AG-12_Legumes/AG-12_Legumes.pdf

Visessanguan, W., Benjakul, S., Potachareon, W., Panya, A., And Riebroy, S. (2005). Accelerated proteolysis of soy proteins during fermentation of Thua-nao inoculated with *Bacillus subtilis*. Journal of Food Biochemistry. 29: 349-366.

ประวัตินักวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก เกิดเมื่อวันที่ 12 มีนาคม 2502 ที่จังหวัดนครราชสีมา จบการศึกษาปริญญาตรีจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น สาขาวิชา ชีววิทยา ในปี พ.ศ. 2532 จบการศึกษาระดับปริญญาโทจาก Mie University ที่ประเทศญี่ปุ่น สาขาวิชา Biotechnology and Biochemistry ในปี พ.ศ. 2536 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาเอกจาก Mie University ที่ประเทศญี่ปุ่น สาขาวิชา Applied Sciences and Biotechnology ในปี พ.ศ. 2539 ปัจจุบันดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สังกัดสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัดนครราชสีมา มีความชำนาญพิเศษทางด้าน Food Microbiology, Food fermentation, Microbiological Food Safety, Control of food borne pathogen (food biopreservative ; nisin /bacteriocin/natural antimicrobials), Preservative packaging and the hygienic aspect, Microbe-microbe interaction และ microbiological challenge testing มีประสบการณ์การทำงานในตำแหน่ง รองผู้อำนวยการศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (พ.ศ. 2544- 2548) หัวหน้าสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี (พ.ศ.2550-2553) และผู้เชี่ยวชาญด้านเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว (ด้านความปลอดภัยในอาหาร) ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มีประสบการณ์ในการทำงานบริการวิชาการได้แก่ คณะจัดทำระบบการจัดการอาชีวอนามัยและความปลอดภัย มอก. 1800 คณะทำงานจัดทำระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อการรับรองคุณภาพตามมาตรฐาน มอก. 17025 แก่หน่วยงาน (ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ที่ปรึกษาแก่โรงงานอุตสาหกรรมและร่วมเป็นวิทยากรอบรมพนักงานโรงงานในเขตนครราชสีมาเรื่องมาตรฐานความปลอดภัย GMP/HACCP พ.ศ. 2544 ที่ปรึกษาให้คำแนะนำด้านอนามัยสิ่งแวดล้อมสำหรับกิจการที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพแก่ศูนย์อนามัยสิ่งแวดล้อมเขต 5 นครราชสีมา พ.ศ. 2546 ที่ปรึกษาให้คำแนะนำด้านจุลินทรีย์และการปนเปื้อนในสายการผลิต บริษัทโดลไทยแลนด์ จำกัด (พ.ศ. 2558) และมีประสบการณ์ในการเป็นวิทยากร ได้เคยทำการวิจัยเป็นหัวหน้าโครงการที่สำเร็จมาแล้วกว่า 10 โครงการ มีสิ่งตีพิมพ์นานาชาติมากกว่า 30 บทความ