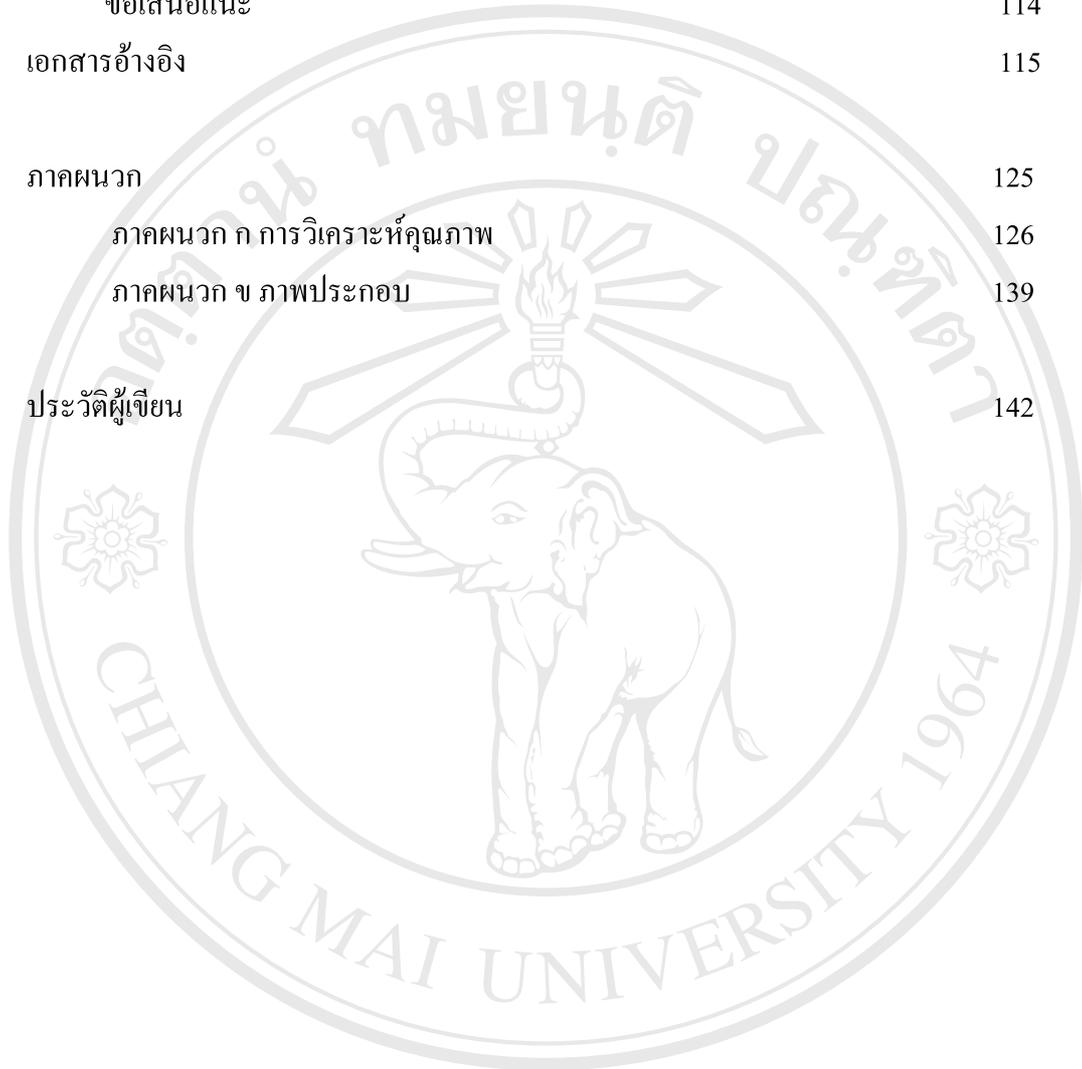


## สารบัญ

กิตติกรรมประกาศ	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	ฐ
ที่มาและความสำคัญ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
ขอบเขตของการวิจัย	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	18
วัสดุดิบและอุปกรณ์	18
วิธีการทดลอง	21
แผนผังแสดงภาพรวมของวิธีการทดลอง	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	38
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	112
สรุปผลการทดลอง	112

ข้อเสนอแนะ	114
เอกสารอ้างอิง	115
ภาคผนวก	125
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพ	126
ภาคผนวก ข ภาพประกอบ	139
ประวัติผู้เขียน	142



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	กรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ในเมล็ดถั่วเหลือง ในแป้งถั่วเหลืองในอาหารชั้น (concentrate) และในส่วนที่แยกออกเป็นอิสระ (isolates) เมื่อเทียบกับ ปริมาณที่องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) กำหนด เป็นมาตรฐานของอาหารที่มีคุณภาพดี	6
2.2	คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเน่า	12
2.3	เชื้อ <i>Bacillus</i> spp ที่ตรวจพบในถั่วเหลืองหมักพื้นบ้านของไทย	16
2.4	ปริมาณไอโซฟลาโวนในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง	17
3.1	แสดงคุณลักษณะทางด้านฟิโนไทป์ซึ่งใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของ แบคทีเรียแกรมบวกประเภทที่สร้างเอนโดสปอร์	24
3.2	ระดับความเข้มข้นในการทดลองหาปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ที่เหมาะสม	29
3.3	แผนการทดลองการแบบ Central Composite Design (CCD) ในการ ศึกษาปริมาณเชื้อที่เหมาะสมต่อการหมักถั่วเหลือง	30
3.4	ระดับต่ำและสูงของปัจจัยในการศึกษาอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด ด่างที่เหมาะสม	32
3.5	แผนการทดลองการแบบ Central Composite Design (CCD) ในการ ศึกษาอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	32
3.6	สิ่งทดลองของการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการนี้	35
3.7	สิ่งทดลองของการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการอบแห้ง	35
4.1	ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างถั่วเน่า	38
4.2	ลักษณะของเซลล์และการติดสีกรัมของเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่าน การคัดแยกจากถั่วเน่า	43
4.3	แสดงผลการทดสอบทางชีวเคมีของ แบคทีเรียแกรมบวกประเภท ที่สร้างเอนโดสปอร์	47

4.4	ปริมาณไอโซฟลาโวน ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักและถั่วเน่า	51
4.5	การดูดกลืนของแสงและปริมาณโคโลนี ณ ที่เวลาต่างๆ ของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01	60
4.6	การดูดกลืนของแสงและปริมาณโคโลนี ณ ที่เวลาต่างๆ ของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCR04	62
4.7	การดูดกลืนของแสงและปริมาณโคโลนี ณ ที่เวลาต่างๆ ของเชื้อ <i>Bacillus megaterium</i> PY03	64
4.8	ผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองหมัก	67
4.9	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของปริมาณ หัวเชื้อทั้งสามชนิดที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวน	68
4.10	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของปริมาณ หัวเชื้อทั้งสามชนิดที่มีต่อปริมาณเจนิสทิน	70
4.11	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของปริมาณ หัวเชื้อทั้งสามชนิดที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนรวม	73
4.12	สมการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวน เจนิสทิน และไอโซฟลาโวนรวมจาก ปริมาณเชื้อทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมัก	74
4.13	ปริมาณไอโซฟลาโวนของถั่วเหลืองหมักที่ปริมาณความชื้นต่างๆ	77
4.14	ปริมาณไอโซฟลาโวนที่เกิดขึ้นจากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก ณ อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดต่างแต่ละระดับ	78
4.15	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและค่าความเป็นกรดต่างที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองหมัก	79
4.16	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาที่มีต่อปริมาณเจนิสทินในถั่วเหลืองหมัก	80
4.17	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนรวมในถั่วเหลืองหมัก	81
4.18	สมการทำนายปริมาณไอโซฟลาโวน เจนิสทิน และไอโซฟลาโวนรวม จากค่าอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรดต่างในกระบวนการหมัก	82
4.19	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. ในถั่วเหลืองหมักที่ได้ในช่วงเวลาต่างๆ	88
4.20	ค่าความเป็นกรดต่างในช่วงเวลาต่างๆ	93
4.21	ปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	94

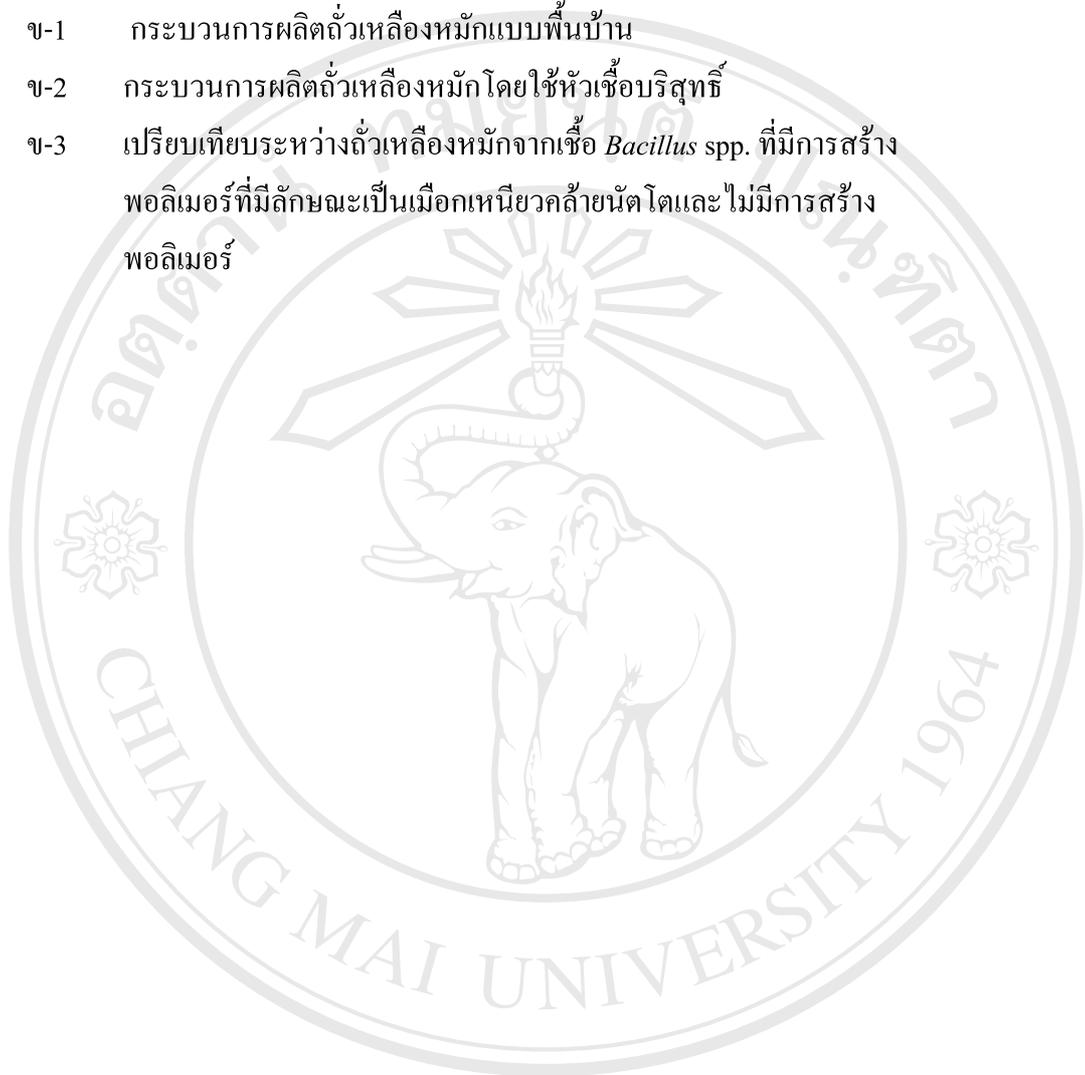
4.22	ค่าสี่ $L^* a^* b^*$ ของถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	98
4.23	เปรียบเทียบค่าคุณภาพของถั่วเน่า และถั่วเหลืองหมักโดยหัวเชื้อเริ่มต้น	99
4.24	ปริมาณไอโซฟลาโวน จากถั่วเหลืองหมักซึ่งผ่านกระบวนการ นึ่งด้วยความร้อน ณ อุณหภูมิต่างๆ	101
4.25	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาในการนึ่งที่มีต่อปริมาณไคซิทิน	102
4.26	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลานึ่งที่มีต่อปริมาณเจนิสทิน	103
4.27	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลานึ่งที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนรวม	104
4.28	สมการทำนายปริมาณไคซิทิน เจนิสทิน และไอโซฟลาโวนรวมจากค่า อุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการนึ่ง	105
4.29	ปริมาณไอโซฟลาโวน จากถั่วเหลืองหมักซึ่งผ่านกระบวนการ การอบด้วยความร้อน ณ อุณหภูมิต่างๆ	106
4.30	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาอบที่มีต่อปริมาณไคซิทิน	107
4.31	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาอบที่มีต่อปริมาณเจนิสทิน	108
4.32	การวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการตอบสนองต่อพื้นที่ของ อุณหภูมิและเวลาอบที่มีต่อปริมาณไอโซฟลาโวนรวม	109
4.33	สมการทำนายปริมาณไคซิทิน เจนิสทิน และไอโซฟลาโวนรวม จากค่าอุณหภูมิ และเวลาในกระบวนการอบ	110

## สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 โครงสร้างโมเลกุลของไอโซฟลาโวน	8
3.1 แผนภาพแสดงรหัสในแต่ละระดับความเข้มข้นเพื่อทำการศึกษ ปริมาณเชื้อ	29
3.2 แผนภาพแสดงรหัสในแต่ละระดับอุณหภูมิและค่าความเป็นกรดต่าง ที่ใช้ทำการทดลอง	32
3.3 แผนภาพแสดงรหัสในแต่ละระดับของอุณหภูมิ และ ระยะเวลา ที่ใช้ทำการนี้	35
3.4 แผนภาพแสดงรหัสในแต่ละระดับของอุณหภูมิ และ ระยะเวลา ที่ใช้ทำการอบ	37
4.1 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างถั่วเน่า	42
4.2 ตัวอย่างลักษณะเชื้อในจินัสบาซิลัสที่ 18 ชั่วโมง	46
4.3 ตัวอย่างลักษณะเชื้อในจินัสบาซิลัส ที่ 24 ชั่วโมง	46
4.4 เชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01 บนอาหารแข็ง อาหารเหลว และ ในกล้องจุลทรรศน์	55
4.5 ปริมาณไอโซฟลาโวนรวมในถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ในกลุ่มที่ไม่มีการสร้างสารพอลิเมอร์	55
4.6 เชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCR04 บนอาหารแข็ง อาหารเหลว และ ในกล้องจุลทรรศน์	56
4.7 ปริมาณไอโซฟลาโวนรวมในถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> ในกลุ่มที่มีการสร้างสารพอลิเมอร์คล้ายน้ำตาลโตน	56
4.8 เชื้อ <i>Bacillus megaterium</i> PY03 บนอาหารแข็ง อาหารเหลว และ ในกล้องจุลทรรศน์	57
4.9 ปริมาณไอโซฟลาโวนรวมในถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ <i>Bacillus megaterium</i>	57
4.10 การดูคกกลืนแสงของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01	61
4.11 จำนวนโคโลนีของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01	61

4.12	การดูดกลืนแสงของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCR04	63
4.13	จำนวน โคโลนีของเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCR04	63
4.14	การดูดกลืนแสงของเชื้อ <i>Bacillus megaterium</i> PY03	65
4.15	จำนวน โคโลนีของเชื้อ <i>Bacillus megaterium</i> PY03	65
4.16	แนวโน้มของเจนิสทีอินจากถั่วเหลืองต่อระดับของปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCRO4 และ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01	71
4.17	แนวโน้มของเจนิสทีอินจากถั่วเหลืองต่อระดับของปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ ปริมาณเชื้อสายพันธุ์ <i>Bacillus megaterium</i> PY03 และ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01	71
4.18	แนวโน้มของเจนิสทีอินจากถั่วเหลืองต่อระดับของปริมาณเชื้อบริสุทธิ์ สายพันธุ์ <i>Bacillus megaterium</i> PY03 และ <i>Bacillus subtilis</i> NATTOCRO4	72
4.19	ระดับของปริมาณเชื้อ <i>Bacillus subtilis</i> THUANAOLG01 และ <i>Bacillus megaterium</i> PY03 ที่ให้ปริมาณ เจนิสทีอินสูงสุด	75
4.20	ผลของออกซิเจนในสภาวะการหมักถั่วเหลืองที่มีต่อปริมาณ ไอโซฟลาโวน	76
4.21	แนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่มีผลต่อ ปริมาณ ไคซิทิน	82
4.22	แนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณเจนิสทีอิน	83
4.23	แนวโน้มของค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่มีผลต่อ ปริมาณ ไอโซฟลาโวนรวม	83
4.24	Overlay plot ของสภาวะค่าความเป็นกรดต่างและอุณหภูมิที่มีผลต่อ ปริมาณ ไอโซฟลาโวน	84
4.25	ผลของระยะเวลาหมักที่มีต่อปริมาณ ไอโซฟลาโวน	86
4.26	ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย <i>Bacillus</i> spp. จากถั่วเหลืองหมัก	87
4.27	ค่าความเป็นกรดต่างของถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	93
4.28	ปริมาณ ไคซิทินของถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	95
4.29	ปริมาณเจนิสทีอินของถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	96
4.30	ปริมาณ ไอโซฟลาโวนรวมของถั่วเหลืองหมัก ณ ช่วงเวลาต่างๆ	97
4.31	เปรียบเทียบตัวอย่างถั่วเหลืองหมักพื้นบ้าน(ถั่วเน่า) และตัวอย่างถั่วเหลือง หมักโดยเชื้อบริสุทธิ์ (ถั่วชีวภาพ)	100
ก-1	Peak ของสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์	128

ก-2	แสดงช่วงของค่าสีในระบบอินเตอร์ (CIELAB COLOR SCALE)	130
ก-3	แสดงผลการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อ Glucose broth	137
ข-1	กระบวนการผลิตถั่วเหลืองหมักแบบพื้นบ้าน	139
ข-2	กระบวนการผลิตถั่วเหลืองหมักโดยใช้หัวเชื้อบริสุทธิ์	139
ข-3	เปรียบเทียบระหว่างถั่วเหลืองหมักจากเชื้อ <i>Bacillus</i> spp. ที่มีการสร้างพอลิเมอร์ที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวคล้ายน้ำตาลโตนดและไม่มีการสร้างพอลิเมอร์	141



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
 Copyright© by Chiang Mai University  
 All rights reserved