รหัสโครงการ SUT3-305-54-24-04

รายงานการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

(Nutritional snack bar development from fermented soybean)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-54-24-04

รายงานการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

(Nutritional snack bar development from fermented soybean)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

กรกฎาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

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

ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก

กรกฎาคม 2558

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยว (Snack bar) จากถั่วเหลืองหมัก จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเสริมสุขภาพ ซึ่งสารเสริมสุขภาพได้จากจุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อ (*Bacillus subtilis*) กล้าเชื้อจะทำหน้าที่ย่อยสลายสารประกอบสำคัญในถั่วเหลืองระหว่างการหมัก เช่น starchyose ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ และผลิตสารที่เสริมการทำงานของผู้ที่มีภูมิต้านทานต่ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก (ถั่วเน่า) ด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคในพื้นที่จำกัด นำมาแปรรูปเป็นอาหารขบเคี้ยวที่ง่ายต่อการบริโภค โดยนำถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ ได้แก่ กล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour หมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยว จากถั่วเหลืองหมักผสมกับส่วนผสมทั้งหมด 11 สูตร คัดเลือกสูตรที่มีความเป็นไปได้เพื่อเป็นสูตรต้นแบบสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก มีส่วนผสมดังนี้ ถั่วเหลืองหมักบดละเอียด น้ำสะอาด แป้งถั่วเหลือง น้ำตาลทราย เกลือป่น งาขาว และงาดำ ทำการแปรรูปอาหารขบเคี้ยวโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) และวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวที่หมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ 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/100 g ตามลำดับ ทำการตรวจวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เมื่อพิจาณาดัชนีความเสี่ยงสูงสุดด้านคุณภาพความปลอดภัยจากสารอะฟลาทอกซินพบว่า ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ มีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศ ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีอายุการเก็บรักษา 119, 118 และ 103 วัน ตามลำดับ เมื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour มากที่สุด

ABSTRACT

A snack bar product made from fermented soybeans is considered a healthy product with the nutritional supplement derived from the starter culture of *Bacillus subtilis*. The starter culture helps digest significant components in soybeans during fermentation such as starchyose which are undigested substances in human body and also creates functional ingredient that stimulates the immune system. This research aimed to produce an easily consumable snack bar product processed from soybeans (Thua Nao) fermented with the starter culture of *Bacillus subtilis* which has a high nutritional value yet gains limited consumer acceptance. The process began with the 72-hour fermentation of soybeans with three forms of the starter culture of *B. subtilis* SB-MYP1: the fresh starter culture of *B. subtilis* SB-MYP1, the powdered starter culture of *B. subtilis* SB-MYP1 with maltodextrin and the powdered starter culture of *B. subtilis* SB-MYP1 with soybean flour. Then, 11 recipes of a snack bar product processed from fermented soybeans together with other ingredients were developed. After that, a potential recipe was carefully selected in order to become a prototype for a health snack bar product processed from fermented soybeans. The list of ingredients included fermented soybean paste, purified water, soybean flour, sucrose, powdered salt, white sesame seeds and black sesame seeds. Then the mixture of all ingredients was processed into a snack bar product through the use of a drum dryer. The analysis of the nutritional value of the snack bar product fermented with 3 forms of the starter culture showed that the amount of calcium (Ca) was 1,577.00, 1,738.50 and 1,997.50 mg/kg. The amount of iron (Fe) was 40.21, 45.41 and 41.26 mg/kg. The amount of phosphorus (P) was 2,619.00, 3,052.50 and 3,091.50 mg/kg and the amount of vitamin B12 was 0.38, <0.1 and <0.1 µg/100 g respectively. The quality of two types of packaging, namely a vacuum bag and an aluminum foil bag, was then monitored. The aflatoxin contamination indicator indicated that the healthy snack bar product made from soybeans fermented with three forms of the starter culture *B. subtilis* SB-MYP1 packed in an aluminum foil bag had a longer shelf life than the one packed in a vacuum bag. Being packed in an aluminum foil bag, the product which underwent different forms of the starter culture *B. subtilis* SB-MYP1 during fermentation had different lengths of time for their shelf life, namely 119, 118 and 103 days respectively. The customer acceptance test showed that the snack bar product which underwent the fermentation with the powdered starter culture of *B. subtilis* SB-MYP1 with soybean flour had the highest scores.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ข้อตกลงเบื้องต้น	2
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	3
แหล่งที่มาของข้อมูล	3
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	5
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	8
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	15
ตอนที่ 1 ผลการทดสอบหาสูตรผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	15
ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางด้านเคมีอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ	17
ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ จากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ	25
ตอนที่ 4 ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ จากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ	27
ตอนที่ 5 ผลการวิเคราะห์หาอายุการเก็บรักษาอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ จากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ	30

สารบัญ

	หน้า
ตอนที่ 6 ผลการทดสอบการยอมรับอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ	32
บทที่ 4 บทสรุป	33
สรุปผลการวิจัย	33
ข้อเสนอแนะ	34
บรรณานุกรม	35
ภาคผนวก	36
ประวัติผู้วิจัย	45

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองและถั่วหมักในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม 4
ตารางที่ 2 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (1) 6
ตารางที่ 3 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (2) 7
ตารางที่ 4 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (3) 7
ตารางที่ 5 แสดงส่วนผสมสำหรับอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (ปริมาณทั้งหมด 1000 กรัม) 8
ตารางที่ 6 ร้อยละความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 19
ตารางที่ 7 ร้อยละความชื้นตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 20
ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำอิสระ (aw) ของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 21
ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำอิสระ (aw) ตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 22
ตารางที่ 10 ปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 23
ตารางที่ 11 ปริมาณอะฟลาทอกซินตลอด 3 เดือนในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 24
ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังกระบวนการแปรรูป 25
ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุและวิตามินของอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (functional fermented soybean snack bar) 26
ตารางที่ 14 ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable bacteria) ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 28

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 15 ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable bacteria) ตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 29

ตารางที่ 16 แสดงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยระดับมาตรฐานความชื้น 31

ตารางที่ 17 แสดงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยระดับมาตรฐานอะฟลาทอกซิน 31

ตารางที่ 18 คะแนนรวมจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ประเมิน 30 คน 32

ตารางที่ 19 ผลการทดสอบ F-test จากคะแนนที่ผู้ประเมินให้ในแต่ละตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ 32

ตารางที่ 20 คุณลักษณะและข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ชุมชนแผ่นถั่วเน่า 37

ตารางที่ 21 คะแนนการยอมรับผลิตภัณฑ์จากผู้ทดสอบจำนวน 30 คน 40

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 16

บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ถั่วเป็นแหล่งอาหารที่มีโปรตีนสูง สามารถรับประทานเพื่อให้ได้รับโปรตีนจากอาหารไปใช้ได้อย่างเพียงพอ จึงเป็นที่นิยมบริโภคในกลุ่มคนที่รับประทานอาหารเจหรืออาหารมังสะวิรัติ ซึ่งพืชตระกูลถั่วที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นอาหารเพื่อบริโภคเป็นอย่างมากคือ ถั่วเหลือง เนื่องจากถั่วเหลืองอุดมไปด้วยคุณค่าทางอาหารมากมาย อาทิ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไนอะซิน วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 12 เป็นต้น (กองโภชนาการกรมอนามัย, 2535) ถั่วสามารถกระตุ้นการการสร้างเซลล์กระดูก ป้องกันการขาดแคลเซียมในกระดูก และบำรุงระบบประสาท นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังมีสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนต์ เช่น isoflavones, phytic acids, saponins และ oligosaccharides สารที่มีประโยชน์เหล่านี้จะมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นได้ด้วยกระบวนการหมัก ซึ่งในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์หลากหลายที่ทำมาจากถั่วเหลือง เช่น ถั่วหมักหรือถั่วเน่า เต้าเจี้ยว เทมเป้ ซีอิ๊ว เป็นต้น กระบวนการหมักจะทำให้คุณค่าทางอาหารเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากการทำหน้าที่ของจุลินทรีย์ที่จะไปย่อยแหล่งอาหาร แล้วได้เป็นสารสำคัญในระหว่างกระบวนการหมัก เกิดเป็นกลิ่นรสที่เฉพาะในแต่ละผลิตภัณฑ์ และได้สารอาหารที่มีคุณค่าเพิ่มมากขึ้น จากงานวิจัยของ ปิยะวรรณ กาสลัก และ รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 2554 มีการพัฒนาวิธีการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่มีคุณสมบัติในการช่วยลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของถั่วเหลืองหมัก จากคุณสมบัติของกล้าเชื้อนี้ถือเป็นความสำเร็จในการพัฒนาคุณภาพของถั่วเหลืองหมักให้ดียิ่งขึ้น เพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกในการบริโภคและช่วยให้การบริโภคถั่วเหลืองหมักเป็นไปอย่างแพร่หลายมากขึ้น ผู้วิจัยจึงคิดค้นการนำผลิตภัณฑ์ถัวเหลืองหมักมาพัฒนาเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยว (Snack bar) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง เนื่องจากผู้บริโภคทุกเพศทุกวัยสามารถบริโภคได้ ปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่หันมานิยมบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทธัญพืชมากขึ้น เพราะเป็นแหล่งอาหารที่มีประโยชน์ ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักสดที่ผลิตได้จากการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่ยังไม่เป็นที่ยอมรับความนิยมจากผู้บริโภค ดังนั้นการนำผลิตภัณฑ์ถั่วหมักมาพัฒนาแปรรูปเป็นขนมขบเคี้ยว จึงเหมาะสมต่อการแก้ปัญหาทุพโภชนาการ และปัญหาโรคโลหิตจางที่มีสาเหตุมาจากการ

ขาดธาตุเหล็ก ทำให้ผู้ป่วยมีการพัฒนาด้านต่างๆ ของร่างกายช้ากว่าคนปกติ การพัฒนาด้านสติปัญญา การเรียนรู้ ประสิทธิภาพในการทำงานตลอดจนด้านภูมิคุ้มกันโรคต่ำลง ทั้งนี้เพราะในเมล็ดถั่วเหลืองยังอุดมไปด้วยธาตุเหล็ก (Tajima, 2003) งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาผลิตอาหารขบเคี้ยว จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก เป็นการสร้างนวัตกรรมใหม่ของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

วัตถุประสงค์ของการทำวิจัย

1. เพื่อพัฒนาผลิตอาหารขบเคี้ยว (Snack bar) จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก
2. เพื่อเพิ่มมูลค่าและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก
3. เพื่อสร้างนวัตกรรมใหม่ของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ขอบเขตของการวิจัย

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

ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

<u>หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์</u>

กลุ่มประชากรเป้าหมายที่ผลิตและจำหน่ายอาหารแปรรูปถั่ว

บทที่ 2
วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่นิยมปลูกบริโภคในประเทศแถบเอเชียเนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยโปรตีน 30-40 เปอร์เซ็นต์ มีราคาถูกกว่าเนื้อสัตว์ องค์การอาหารและยาของสหประชาชาติ อนุญาตให้ระบุว่าการบริโภคโปรตีน จากถั่วเหลืองวันละ 25 กรัม ช่วยลดอัตราการเสี่ยงจากการเป็นโรคหัวใจและโรคหลอดเลือดอุดตัน นอกจากนี้ในถั่วเหลือง ยังประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวจำเป็นในปริมาณสูง รวมทั้งสารพฤกษเคมีที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนตี้ออกซิแดนท์พวกซาโปนิน และไอโซฟลาโวน โดยเฉพาะสารไอโซฟลาโวนที่ช่วยลดอัตราการเสี่ยงการเป็นโรคมะเร็งเต้านม (ยุพร, 2550)

กล้าเชื้อ *B. subtilis* มีบทบาทสำคัญในการทำผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก เป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มแกรมบวก รูปแท่ง มี flagella แบบ peritrichous เจริญได้ดีที่ pH 5.5-8.5 ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobes) หรือ มีอากาศเล็กน้อย (facultative anaerobes) สร้าง catalase มี endospore ที่ทำให้มีคุณสมบัติในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่ดีได้ ไม่ทำให้เกิดโรค สร้าง hydrolytic enzyme ที่ย่อยสลาย polysaccharide, nucleic acid และ lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอนและตัวให้อิเล็กตรอน มีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อตัวนี้ในการหมักคือการปล่อยเอนไซม์โปรติเอสออกมาย่อยโปรตีน และอะไมเลสย่อยสารตั้งต้นในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ทำให้ช่วยปรับปรุงองค์ประกอบที่ย่อยได้ยากให้อยู่ในรูปที่ย่อยได้ง่ายและเป็นประโยชน์มากขึ้น (Feng และคณะ, 2007) นอกจากนี้ *B. subtilis* ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Aspergillus* และสารพิษได้อีกด้วย (Petchkongkaew และคณะ, 2008)

การแปรรูปขนมขบเคี้ยว (Snack bar) จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer หรือ Roller dryers) เพราะจากตารางที่ 1 จะเห็นว่าถั่วหมักแห้งจะมีปริมาณโปรตีน แคลเซียม ธาตุเหล็กและวิตามินบี 2 มากกว่าถั่วเหลืองดิบ ถั่วเหลืองสุกและถั่วหมักเปียก เนื่องจากการใช้เครื่องอบแห้งจะใช้หลักการนำความร้อนทำให้อาหารมีอุณหภูมิสูงขึ้น ข้อดีที่สำคัญเมื่อเทียบกับการอบแห้งโดยใช้อากาศร้อนคือ ไม่จำเป็นต้องให้ความร้อนแก่อากาศปริมาณมากก่อนเริ่มการอบแห้ง มีประสิทธิภาพ

การใช้ความร้อนสูง ทั้งนี้อาจทำการอบแห้งโดยมีต้องมีก๊าซออกซิเจนเกี่ยวข้อง จึงเป็นการป้องกันอาหารที่เกิดการออกซิไดซ์ได้ง่าย (วิไล, 2546)

ตารางที่ 1 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองและถั่วหมักในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

สารอาหาร	ถั่วเหลืองดิบ[b]	ถั่วเหลืองสุก[a]	ถั่วหมักเปียก[b]	ถั่วหมักแห้ง[b]
ความชื้น (%)	11.1	71.0	61.8	12.0
โปรตีน (g)	34.0	11.0	17.9	43.9
ไขมัน (g)	18.7	5.7	6.6	17.6
คาร์โบไฮเดรต (g)	26.7	10.8	5.3	13.5
แคลเซียม (mg)	245	73	198	292
ฟอสฟอรัส (mg)	500	179	223	5
เหล็ก (mg)	10.0	2.7	6.1	21
วิตามินบี1 (mg)	0.73	0.21	0.04	0.06
วิตามินบี2 (mg)	0.19	0.09	0.45	0.73
ไนอาซีน (mg)	1.5	0.6	1.6	1.5

ที่มา : [a]กองโภชนาการ กรมอนามัย : 2530, [b]กองโภชนาการ กรมอนามัย : 2535

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ตอนที่ 1 การหมักถั่วเหลือง

1. การเตรียมกล้าเชื้อ *Bacillus subtillis* SB-MYP1

นำ *B. subtilis* SB-MYP1 ไป steak บนอาหาร Nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยวไปใส่ในอาหาร NB ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ นำไปบ่มและ เขย่าที่ 180 รอบ/นาที ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำไป centrifuge ที่ 10000g อุณหภูมิ 4 องศา นาน 15 นาที จากนั้นเอาส่วนที่ตกตะกอนเจือจางด้วยโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85% เทียบความขุ่นกับ McFarland No.1 (3.0 x 10^8 cfu/ml)

2. การเตรียมถั่วเหลืองและการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1

ล้างถั่วเหลืองด้วยน้ำสะอาด จากนั้นแช่น้ำทิ้งไว้ประมาณหนึ่งคืน นำถั่วเหลืองไปให้ความร้อนด้วยหมอนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 เตรียมไว้แล้วดังข้างต้นลงในถั่วเหลืองอัตราส่วน กล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร ต่อ ถั่วเหลืองสุก 500 กรัม และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ในรูปผงด้วย soybean flour และ maltodextrin หมักเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดละเอียดด้วยเครื่องบดอาหาร (ยี่ห้อ KENWOOD รุ่น A920)

ตอนที่ 2 การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก

ออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยใช้ถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ ได้แก่ กล้าเชื้อสดของ *B. subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour เป็นส่วนผสมหลักในการผลิต และเพิ่มเติมส่วนผสมอื่น เช่น soybean flour น้ำตาลทราย เป็นต้น

การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 1

นำส่วนผสม ได้แก่ ถั่วเหลืองหมัก (fermented soybean) หางนม (whey) soybean flour (soybean flour) น้ำตาลทราย (sucrose) ฟรุกโตสไซรับ (fructose syrup) เกลือ (salt) งาขาว งาดำ และ

น้ำเปล่า โดยนำไปผสมและให้ความร้อนในระหว่างกวนผสมที่อุณหภูมิ 60 – 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปแผ่บนถาดเหล็กทนร้อนให้เป็นแผ่นบาง หนา 1 เซนติเมตร โดยประมาณ นำไปด้วยตู้อบแบบใช้ไฟฟ้า (ยี่ห้อ SVEBA DAHLEN AB รุ่น DC-22) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (1)

ส่วนผสม	**สูตรผลิตภัณฑ์**				
	1	**2**	**3**	**4**	**5**
fermented soybean	25.00%	20.00%	15.00%	27.00%	27.00%
whey	6.00%	10.00%	15.00%	15.00%	-
soybean flour	6.00%	10.00%	15.00%	-	15.00%
sucrose	10.00%	10.00%	12.00%	15.00%	15.00%
fructose syrup	10.00%	10.00%	12.00%	15.00%	15.00%
salt	1.00%	0.50%	0.20%	0.20%	0.20%
งาขาว	1.00%	1.00%	1.00%	1.00%	1.00%
งาดำ	1.00%	1.00	1.00%	1.00%	1.00%
น้ำสะอาด	40.00%	37.50%	28.80%	25.80%	25.80%

การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 2

นำส่วนผสม ได้แก่ ถั่วเหลืองหมัก น้ำเปล่า น้ำตาลทรายขาว ฟรุกโตสไซรับ เกลือ นำไปผสมคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าวไปผ่านการแปรรูปด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum dryer) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

- ระยะห่างของลูกกลิ้ง 3 มิลลิเมตร
- ระยะห่างของลูกกลิ้งกับใบมีด 1 มิลลิเมตร (โดยประมาณ)
- อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส
- ความเร็วรอบ 0.54 รอบ/นาที

ตารางที่ 3 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (2)

ส่วนผสม	สูตรผลิตภัณฑ์		
	1	2	3
fermented soybean	62.50%	58.50%	63.60%
sucrose	8.30%	6.50%	13.60%
fructose syrup	4.20%	8.50%	3.60%
salt	4.20%	3.00%	1.00%
น้ำสะอาด	20.80%	23.50%	18.20%

การพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 3

นำส่วนผสม ได้แก่ ถั่วเหลืองหมัก น้ำเปล่า น้ำตาลทราย soybean flour เกลือ งาขาว และงาดำ โดยนำไปผสมคลุกเคล้าให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าวไปผ่านการแปรรูปด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum dryer) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

- ระยะห่างของลูกกลิ้ง 3 มิลลิเมตร
- ระยะห่างของลูกกลิ้งกับใบมีด 1 มิลลิเมตร (โดยประมาณ)
- อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส
- ความเร็วรอบ 0.54 รอบ/นาที

ตารางที่ 4 สูตรและส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (3)

ส่วนผสม	สูตรผลิตภัณฑ์		
	1	2	3
fermented soybean	50.00%	40.00%	30.00%
sucrose	20.00%	20.00%	20.00%
soybean flour	10.00%	10.00%	10.00%
salt	0.50%	0.50%	0.50%
งาขาว	1.00%	1.00%	1.00%
งาดำ	1.00%	1.00%	1.00%
น้ำสะอาด	17.50%	27.50%	37.50%

ตอนที่ 3 การแปรรูปถั่วเหลืองหมักเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

นำส่วนผสมสูตรที่ 3 ที่ได้จากทดลองและคัดเลือก (ตารางที่ 4) ชั่งน้ำหนักโดยเริ่มต้นน้ำหนักเปียก 1000 กรัม (ตารางที่ 5) ได้แก่ ถั่วเหลืองหมักบดละเอียด soybean flour น้ำตาลทราย เกลือป่น งาขาว งาดำ และน้ำเปล่า นำไปผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันดี จากนั้นนำส่วนผสมดังกล่าว ไปผ่านขั้นตอนการแปรรูปด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum dryer) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้

- ระยะห่างของลูกกลิ้ง 3 มิลลิเมตร
- ระยะห่างของลูกกลิ้งกับใบมีด 1 มิลลิเมตร (โดยประมาณ)
- อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส
- ความเร็วรอบ 0.54 รอบ/นาที

ตารางที่ 5 แสดงส่วนผสมสำหรับอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (ปริมาณทั้งหมด 1000 กรัม)

รายการส่วนผสม	**ปริมาณ**	
	(%)	**น้ำหนัก(g)**
fermented soybean	30 %	300 g
soybean flour	10%	100 g
sucrose	20%	200 g
salt	0.5%	5 g
งาขาว	1%	10 g
งาดำ	1%	10 g
น้ำสะอาด	37.5%	375 g
รวม	100%	1000 g

วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

ตอนที่ 4 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์

1. วิเคราะห์หาค่าความชื้น

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักประมาณ 1 กรัม ทำการวัดค่าความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้น รุ่น Precisa HA 300

2. วิธีวิเคราะห์หาปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (A_w)

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักประมาณ 1 กรัม ทำการวัดค่าปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องวิเคราะห์ Aw รุ่น Aw-CX3 TE

3. วิธีวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซิน (Aflatoxin)

เก็บตัวอย่าง 1 กิโลกรัม นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น (blender) ชั่งตัวอย่างที่ปั่นละเอียด 20 กรัม นำมาวิเคราะห์หาสารอะฟลาทอกซินด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) รายละเอียดวิธีทดสอบดังภาคผนวก

4. การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (FDA-BAM (2001))

เก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก 25 กรัม ผสมกับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ peptone water 225 มิลลิลิตร ใน stomacher bag ตีบดด้วยเครื่อง stomacher โดยใช้ความเร็วรอบปานกลางเป็นเวลา 60 วินาที ได้ตัวอย่างถั่วหมักที่มีความเจือจางในระดับ 10^{-1} ทำการเจือจางเป็นลำดับ จนได้ระดับความเจือจางประมาณ 10^{-6} ปิเปตตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารวุ้น PCA เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้เทคนิค spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ตอนที่ 5 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

1. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC Method 900.02 A)

อบ crucible ที่จะใช้ในการวิเคราะห์เถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550°C นาน 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ 30 – 45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิในเตาเผาลดลงก่อน นำออกจากเตาเผาแล้วใส่ในตู้ดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักของ crucible เปล่าและจดบันทึก จากนั้นชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก 5 – 10 กรัม นำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 12 - 18 ชั่วโมง และรอจนอุณหภูมิลดลงน้อยกว่า 250°C จากนั้นปิดเตาเผา นำ crucible ออกจากเตาเผาและรีบปิดฝาทันที นำไปใส่ไว้ในตู้ดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องนำมาชั่งและคำนวณปริมาณเถ้า

2. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น ด้วยการอบแห้งโดยใช้ตู้อบ (AOAC Method 925.10)

อบ Aluminum moisture can ในตู้อบอุณหภูมิ 100 – 130 ℃ นาน 20 – 30 นาที นำไปทำให้เย็นด้วยตู้ดูดความชื้น จากนั้นนำ Aluminum moisture can ไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก 5 กรัม ใส่ลงใน Aluminum moisture can นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 100 – 105 ℃ นานประมาณ 2 – 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกมาจากตู้อบและปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนัก จากนั้นนำไปอบซ้ำหลายๆครั้ง จนได้น้ำหนักที่คงที่ ชั่งน้ำหนักของแข็งที่เหลืออยู่ คำนวณหาน้ำหนักของน้ำที่หายไป และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีเคลดาห์ล (AOAC Method 928.08)

<u>การย่อยตัวอย่าง</u>

ชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก 0.5 – 1.0 กรัม บนกระดาษกรองและห่อใส่ใน kjeldahl flask เติมสารสำเร็จรูป 5 กรัม จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 20 มิลลิลิตร ลงใน kjeldahl flask นำไปย่อยใน kjeldahl digestion apparatus ที่อุณหภูมิ 400 ℃ โดยประมาณ ย่อยจนกระทั้งได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ตั้งที่ไว้ให้เย็น เติมน้ำบริสุทธิ์ 75 มิลลิลิตร ลงในหลอดแก้วที่ย่อย จะได้สารละลายใส

<u>การกลั่นตัวอย่าง</u>

กลั่นตัวอย่างที่ได้จากการย่อยด้วยเครื่อง kjeldahl เติมสารละลายกรดบอริก 50 มิลลิลิตร ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร หยด mixed indicator 4-5 หยด นำไปวางรองบน distillate จากเครื่องกลั่นโดยให้ปลายหลอดแก้วจุ่มอยู่ในสารละลายกรดบอริกแล้วนำ kjeldahl flask ที่มีสารละลายตัวอย่าง มาเติมสารละลายโซดาไฟ (1:1) จำนวน 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่น (ประมาณ 1 ชั่วโมง) จนได้ปริมาตร 250 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรต

<u>การไทเทรต</u>

ไทเทรตของเหลวที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือมาตรฐาน โดยสีของสารละลายจะเปลี่ยนจากเขียวเป็นม่วง (purple) คือ จุด end point โดยที่การไทเทรต blank ทำในวิธีการเดียวกัน จากนั่นคำนวณหาปริมาณโปรตีน

4. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดย Soxhlet method (AOAC Method 963.15)

บดตัวอย่างอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก 30 กรัม โดยใช้โถบดยา นำ Cellulose extraction thimble ออกจากตู้ดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน นำตัวอย่างที่บดแล้ว 2- 3 กรัม ใส่ลงใน thimble จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งและปิดจุกด้วย glass wool และชั่งน้ำหนักอีกครั้ง นำ thimble ใส่ในเครื่อง Soxhlet extractor เติม petroleum ether 350 มิลลิลิตร ลงใน fask โดยใส่ glass boiling beads ลงไป 2-3 ลูก ทำการสกัดประมาณ 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำ thimble ออกมาวางในบีกเกอร์ แล้วนำไปใส่ในตู้ดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก

5. การวิเคราะห์หาปริมาณใยอาหารหยาบ (AOAC Method 978.10)

นำกระดาษกรองอบในตู้อบอุณหภูมิ 105°C นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำใส่ในตู้ดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักก่อนใช้ ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างที่ผ่านการสกัดเอาไขมันออกแล้ว 1± 0.001 กรัม ใส่บีกเกอร์ทรงสูงขนาด 600 มิลลิลิตร เติม 1.25% กรดซัลฟูริกที่ร้อน 150 มิลลิลิตร (ทำให้ร้อนโดยการอุ่นบน hot plate เพื่อรอการย่อย) ทำการย่อยเป็นเวลา 30 นาที (ตั้งบนไฟอ่อน) กรองตัวอย่างที่ได้ขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้ว เพื่อล้างกรดซัลฟูริกออก จากนั้นล้างตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ทำให้ร้อนจำนวน 3 ครั้ง หรือมากกว่าเพื่อล้างกรดออกให้หมด นำกากที่ได้ใส่ลงในบีกเกอร์ใบเดิม แล้วเติม 1.25% ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 150 มิลลิลิตร ใช้เวลาในการย่อยตัวอย่างนาน 30 นาที จากนั้นกรองตัวอย่างที่ย่อยได้ขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิม ล้างด้วยน้ำกลั่นที่ทำให้ร้อนจำนวน 3 ครั้ง หรือมากกว่าเพื่อล้างกรดออกให้หมด ล้างตัวอย่างด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำตัวอย่างที่ย่อยได้พร้อมกระดาษกรองใส่ลงใน crucible อบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 3 ชั่วโมงหรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ นำออกจากตู้อบ แล้วปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก เผาตัวอย่างที่ผ่านการชั่งน้ำหนักในเครื่องเผาที่อุณหภูมิ 500 °C นาน 10 ชั่วโมง นำออกจากตู้และปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณใยอาหารหยาบ

6. การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี 12 (AOAC (2005), 952.20)

<u>เตรียม stock solution</u>

ชั่งผลึกของสารประกอบวิตามินบี 12 คือ cyanocobalamin 5 มิลลิกรัม โดยสารประกอบวิตามินบี 12 จะละลายใน 0.05 M Acetate Buffer pH 5.0 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร จะได้สารประกอบวิตามินบี 12 ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เก็บไว้ที่มืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์

นำสารละลายจากการเก็บตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงหลอดทดสอบ เติมสารละลายโพแทสเซียมไซยาไนด์ แอซีเตทบัฟเฟอร์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร (โพแทสเซียมไซยาไนด์ 1 กรัม ในแอซิเตทบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ pH 4.6 เขย่าหลอดทดลองด้วยเครื่องผสมทันที นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นและปั่นด้วยความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสไว้ เพราะระหว่างที่นึ่งฆ่าเชื้ออยู่ cobalamin จะถูกปล่อยออกมาและเปลี่ยนเป็น cyanocobalamin อยู่ในส่วนของส่วนใสด้านบน นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์โดยเจือจางส่วนใสด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ปริมาณวิตามิน บี 12 อยู่ในช่วงที่วิเคราะห์ได้

การไล่อากาศ การไล่อากาศ การไล่อากาศ

นำสารละลายวิตามินบี 12 มาตรฐานและสารละลายตัวอย่างใส่เครื่อง ultrasonic bath เพื่อทำการไล่อากาศ เป็นเวลา 20 นาที

การวิเคราะห์หาวิตามินบี 12

ใช้ syringe ดูดสารละลายของสารประกอบวิตามินบี 12 และสารละลายตัวอย่างตัวอย่างละ20 ไมโครลิตร ฉีดเข้าเครื่อง HPLC ตามลำดับ บันทึกโครมาโตแกรม นำพื้นที่ใต้พีคของสารละลาย มาตรฐานวิตามินบี 12 มาพลอตกราฟระหว่างความเข้มข้นกับพื้นที่ใต้พีค (โดยให้แกน Y เป็นค่าพื้นที่ใต้พีค และแกน X เป็นความเข้มข้น) แล้วนำพื้นที่ใต้พีคของสารละลายตัวอย่างมาเทียบกับกราฟมาตรฐาน ก็จะได้ความเข้มข้นหรือปริมาณวิตามินบี 12 ของสารละลายตัวอย่าง โดยทำการฉีดครั้งละ 2 ซ้ำ

สภาวะการวิเคราะห์

คอลัมน์ : Inertsil ODS-3V 5 µm (150×4.6 mm. I.D.)

เฟสเคลื่อนที่ : Acetonitrile/0.05 M Acetate buffer pH 5.0 (10/90)

อัตราการไหล : 1.0 มิลลิลิตร/ นาที

เครื่องวัด : UV 265 nm

7. การวิเคราะห์แคลเซียม ฟอสฟอรัสและธาตุเหล็ก (Ozden & Erkan, 2007)

การเตรียมตัวอย่างใช้เครื่อง microwave

ทำการย่อยตัวอย่างโดยชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติม nitric acid ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ย่อยด้วยเครื่อง microwave นาน 30 นาที หลังจากนั้นเติม hydrogen peroxide ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ย่อยต่อด้วยเครื่อง microwave นาน 30 นาที เทสารละลายที่ได้ลงในขวดปรับปริมาตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 50มิลลิลิตร

การวิเคราะห์ด้วยเครื่อง ICP- MS

โดยการวิเคราะห์ธาตุฟอสฟอรัส ใช้ mode no gas ในการวิเคราะห์ ส่วนการวิเคราะห์ธาตุแคลเซียมและธาตุเหล็ก ใช้ mode hydrogen

ตอนที่ 6 การทดสอบหาอายุการเก็บ

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาทดสอบหาอายุการเก็บรักษา โดยเก็บรักษาในถุงสุญญากาศและอะลูมิเนียมฟอยล์ ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นระยะเวลา 3 เดือน ทดสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ณ เริ่มต้น สัปดาห์ที่ 1 สัปดาห์ที่ 2 สัปดาห์ที่ 3 สัปดาห์ที่ 4 เดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 โดยคุณภาพที่ทดสอบ ได้แก่ ปริมาณความชื้น ค่า a_w ค่า pH ปริมาณสารพิษอะฟลาทอกซิน จุลินทรีย์ทั้งหมด แล้วทำการคำนวณหาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยใช้อันดับปฏิกิริยาเป็นปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง และใช้ปริมาณความชื้นและปริมาณอะฟลาทอกซินเป็นดัชนีคุณภาพ (อ้างอิงจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนแผ่นถั่วเน่า มผช. 509/2547)

ตอนที่ 7 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค (Acceptance test) โดยวิธีการใช้สเกลแบบ 9- point hedonic scaling มีระดับการให้คะแนน 9 ระดับ กับผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยนำผลการวิเคราะห์มาหาค่าความแปรปรวน และวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

บทที่ 3

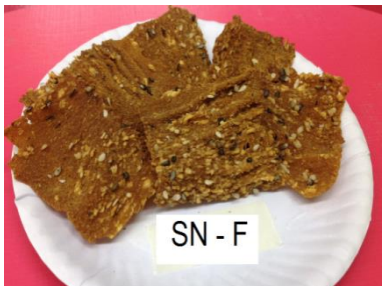
ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ผลการทดสอบหาสูตรผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

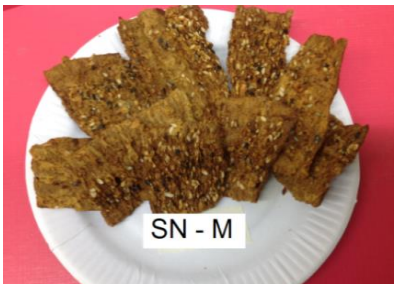
ผลการออกแบบสูตรเพื่อเป็นสูตรต้นแบบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้ง 3 รูปแบบ ได้แก่ กล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour ซึ่งกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ นี้ได้จากทดลองและวิเคราะห์ได้ผลที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปหมักถั่วเหลือง เป็นหนึ่งในผลการวิจัยในชุดโครงการเดียวกัน เรื่อง เทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก (ชุดโครงการ เรื่อง บาซิลัส สับทิลิส ฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณค่าทางโภชนาการและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วหมักเพื่อเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ) ในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์นี้ได้มีการออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยใช้ถั่วเหลืองที่หมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ เป็นส่วนผสมหลักในการผลิต พบว่าจากส่วนผสมสูตรต้นแบบการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 1 (ตารางที่ 2) มีส่วนผสม ดังนี้ ถั่วเหลืองหมักบด หางนม soybean flour น้ำตาลทราย ฟรุกโตสไซรัป เกลือ งาขาว งาดำ และน้ำเปล่า จำนวน 5 สูตร นำส่วนผสมทั้งหมดผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยในระหว่างการผสมมีการให้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 60 – 70 องศาเซลเซียส นำไปอบแห้งด้วยตู้อบแบบใช้ไฟฟ้า (ยี่ห้อ SVEBA DAHLEN AB รุ่น DC-22) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 2-3 ชั่วโมง พบว่าลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ ไหม้เป็นสีดำด้านนอก แต่ด้านในไม่สุกมีลักษณะเหนียว ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์ และพบว่าสูตรที่ 5 (ไม่เติมหางนม หรือ whey) ที่มีส่วนผสม fermented soybean 27.00%, soybean flour 15.00%, sucrose 15.00%, fructose syrup 15.00%, salt 0.20% งาขาว 1.00% งาดำ 1.00% และน้ำสะอาด 25.80% มีคุณสมบัติทางกายภาพดีที่สุด ไม่ไหม้ดำด้านในค่อนข้างสุกแต่ก็ยังมีความเหนียวไม่แห้ง ดังนั้นแล้วผู้วิจัยจึงนำสูตรที่ 5 ในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 1 นำมาออกแบบเพื่อพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 2 (ตารางที่ 3) ได้ทำการออกแบบและปรับเปลี่ยนสูตรและส่วนผสมใหม่ได้ส่วนผสมที่ประกอบด้วย fermented soybean, sucrose, fructose syrup, salt และน้ำสะอาด มีการปรับเปลี่ยนวิธีการแปรรูปจากการใช้ตู้อบไฟฟ้าเป็นการใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) พบว่าสูตรที่ 1 ให้ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้ายยาวเป็นแผ่นเดียวกัน แต่มีรสเค็มเด่นที่สุด ในขณะที่สูตรที่ 3 ผลิตภัณฑ์สุดท้ายไม่แห้งและไม่มีความสม่ำเสมอ แต่มีรสชาติค่อนข้างลงตัว กล่าวคือไม่เค็มและหวานจนเกินไป จึงสรุปได้ว่าปริมาณน้ำและเกลือมีผลต่อคุณลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และการใช้เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) มีความเหมาะสมมากที่สุดต่อการแปรรูปผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงนำผลจากการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 1 และ 2 ไปออกแบบพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ครั้งที่ 3 (ตารางที่ 4) จำนวน 3 สูตร นำส่วนผสมที่หมดผสมผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้ว

นำไปผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) พบว่าสูตรที่ 3 ที่มีส่วนผสม fermented soybean 30%, sucrose 20%, soybean flour 10%, salt 0.50% งาขาว 1.00% งาดำ 1.00% และน้ำสะอาด 37.50% ส่วนผสมดังกล่าวเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปทำให้แห้งแล้วให้คุณลักษณะทางกายภาพเรียบเนียนเป็นเนื้อเดียวกัน แห้งสม่ำเสมอทั้งแผ่น มีความชื้นสุดท้ายหลังการแปรรูป 3.5% – 4.00% ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นไม่สูงเกินกว่ามาตรฐานกำหนด (อ้างอิงจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนแผ่นถั่วเน่า มผช. 509/2547) และมี ค่า aw ไม่เกิน 0.6

ดังนั้นจากผลการออกแบบสูตรผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 ครั้ง (จำนวน 11 สูตร) ผู้วิจัยได้สูตรต้นแบบ 1 สูตร ที่มีส่วนผสม ดังนี้ fermented soybean 30%, sucrose 20%, soybean flour 10%, salt 0.50% งาขาว 1.00% งาดำ 1.00% และน้ำสะอาด 37.50% และผ่านกรรมวิธีในการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (Drum dryer) ที่มีการกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่อง คือ ระยะห่างของลูกกลิ้ง 3 มิลลิเมตร ระยะห่างของลูกกลิ้งกับใบมีด 1 มิลลิเมตร (โดยประมาณ) อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบ 0.54 รอบ/นาที (รูปที่ 1 ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก, ก =ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1, ข = ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin, ค= ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour) แล้วนำผลิตภัณฑ์ต้นแบบบรรจุในสภาวะที่ดึงอากาศออก 50% ในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิดได้แก่ ถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เพื่อนำไปวิเคราะห์หาอายุการเก็บรักษาต่อไป



ก = ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1



ข = ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

ค= ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

รูปที่ 1 ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

ตอนที่ 2 ผลการวิเคราะห์ทางด้านเคมีอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 3 รูปแบบ

ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ ผ่านการบรรจุและดึงอากาศออก 50% ด้วยเครื่องปิดผนึกแบบสุญญากาศ (ยี่ห้อ VAC-STAR รุ่น S225) ทำการตรวจวัดปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์สุดท้ายไปจนถึงเดือนที่ 3 โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นำข้อมูลการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นสำหรับวิเคราะห์หาอายุการเก็บ และเพื่อเป็นดัชนีคุณภาพด้านเคมีวัดการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ที่อ้างอิงตาม มผช. แผ่นถั่วเน่า (มผช. 509/2547) มีรายละเอียดและคุณลักษณะที่ต้องการควบคุมที่สำคัญ คือ ปริมาณความชื้น (%moisture) ต้องไม่เกินร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก พบว่า (ตารางที่ 6) ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้า *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้ง 3 รูปแบบมีร้อยละความชื้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ไม่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานแผ่นถั่วเน่ากำหนด และเมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการบรรจุด้วยบรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ในสภาวะที่มีการควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสตลอดระยะเวลา 3 เดือน พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าสด *B. subtilis* SB-MYP1 มีร้อยละปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้า *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour และยังพบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 แบบ และการบรรจุผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ชนิดถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ มีปริมาณความชื้นต่ำกว่าการบรรจุด้วยถุงสุญญากาศ อย่างไรก็ตามเมื่อครบเวลา 3 เดือน ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ ด้วยบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด มีปริมาณความร้อยละความชื้นที่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานแผ่นถั่วเน่ากำหนด (ต้องไม่เกินร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก) การเปลี่ยนแปลงของร้อยละปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ และภายใต้บรรจุภัณฑ์ที่แตกต่างกัน ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงเดือนที่ 3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P-value = 0.00) จากข้อมูลในตารางที่ 7 แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไปของผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากการหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 ณ เดือนที่ 3 มีปริมาณความชื้นต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับกล้าเชื้อในรูปแบบผง โดยที่ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์มีปริมาณความชื้นต่ำที่สุดคือ 7.14 และผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงสุญญากาศมีปริมาณความชื้นเท่ากับ 7.50 ดังนั้นแล้วจากข้อมูลในตารางดังกล่าวทำให้ทราบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F) มีปริมาณความชื้นที่เปลี่ยนไปตลอดระยะเวลา 3 เดือน ต่ำที่สุดและการเก็บรักษาด้วยบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยด์สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นได้ดีกว่าถุงสุญญากาศ

ตารางที่ 8 ผลการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำอิสระ (aw) ตลอดระยะเวลาสามเดือน การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นนี้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P-value = 0.00) ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงเดือนที่ 3 ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบรวมถึงการบรรจุในบรรจุภัณฑ์ต่างกัน ก็มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสิถิติ (P-value = 0.00) เช่นกัน ดังจะเห็นได้จากในตารางที่ 9 อย่างไรก็ตามค่า aw ที่เปลี่ยนไปตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 3 เดือนทำให้ทราบว่าการเก็บผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ชนิดถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของค่า aw น้อยกว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในบรรจุภัณฑ์ชนิดถุงสุญญากาศ การเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นของค่า aw ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (NS-F) กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin (SN-M) และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) มีค่า aw ของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เท่ากับ 0.349 0.319 และ 0.351 ตามลำดับ ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงสุญญากาศมีปริมาณ aw เท่ากับ 0.443 0.496 และ 0.474 ตามลำดับ

นอกจากการการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและค่า aw แล้ว การวิเคราะห์หาปริมาณสาร-อะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์เป็นดัชนีคุณภาพด้านเคมีที่มีความสำคัญที่สุดในผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการแปรรูปจากถั่วเหลืองนอกจากนี้แล้วในมาตรฐานแผ่นถั่วเน่า (มผช. 509/2547) มีการกำหนดปริมาณการปนเปื้อนสารอะฟลาทอกซินต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (ppb) ดังนั้นการวิเคราะห์หาสารดังกล่าวจึงมีความจำเป็น และนำค่าการวิเคราะห์สารอะฟลาทอกซินมาพิจารณาหาอายุการเก็บในผลิตนี้ด้วย โดยทำการติดตามการวิเคราะห์หาสารดังกล่าวตั้งแต่ผลิตภัณฑ์ผ่านกระบวนการแปรรูปเสร็จเรียบร้อย (เวลาที่ 0 หรือ เริ่มต้น) ไปจนถึงระยะเวลา 3 เดือน เพื่อนำผลที่ได้มาคำนวณหาอายุการเก็บต่อไปด้วย ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 10 ปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ (SN-F, SN-M, SN-S) มีปริมาณสารอะฟลาทอกซินหลังกระบวนการแปรรูปด้วยเครื่อง Drum dryer ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.156) ปริมาณที่ตรวจพบไม่สูงเกินมาตรฐานกำหนด (ไม่สูงเกิน 20 ppb) และเมื่อนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวบรรจุในบรรจุภัณฑ์ถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เก็บรักษาเพื่อหาอายุการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ บรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณสารอะฟลาทอกซินแตกต่างกันยิ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.002) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบและบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์มีปริมาณสารอะฟลาทอกซินต่ำกว่าที่บรรจุในถุงสุญญากาศ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin (SN-M) มีปริมาณสารอะฟลาทอกซินต่ำที่สุด คือ 2.66 ppb และจากข้อมูลในตารางที่ 11 พบว่าปริมาณสารอะฟลาทอกซินของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์เพิ่มสูงขึ้นทุก

สัปดาห์ไปจนถึงเดือนที่ 3 แต่ปริมาณสารดังกล่าวก็ไม่สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด (ไม่สูงเกิน 20 ppb) และพบว่าผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ มีสารอะฟลาทอกซินปนเปื้อนต่ำกว่าที่บรรจุในถุงสุญญากาศและเดือนที่ 3 มีปริมาณสารอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F) ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศ เท่ากับ 11.62 ppb ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เท่ากับ 8.63 ppb ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้า *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin (SN-M) ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศ เท่ากับ 16.27 ppb ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เท่ากับ 9.10 ppb และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้า *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศ เท่ากับ 18.47 ppb ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เท่ากับ 13.53 ppb

ตารางที่ 6 ร้อยละความชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์

เวลา	ชนิดบรรจุภัณฑ์	ร้อยละของความชื้น			P-value
		SN-F	SN-M	SN-S	
เริ่มต้น	ถุงสุญญากาศ	3.42^{e}	3.48^{d}	5.65^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	3.91^{b}	3.64^{c}	5.67^{a}	
สัปดาห์ที่ 1	ถุงสุญญากาศ	4.61^{b}	4.75^{b}	5.65^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	4.00^{c}	3.87^{c}	5.69^{a}	
สัปดาห์ที่ 2	ถุงสุญญากาศ	4.88^{c}	5.43^{b}	5.85^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	4.65^{d}	4.31^{e}	5.77^{a}	
สัปดาห์ที่ 3	ถุงสุญญากาศ	5.63^{b}	6.49^{a}	6.52^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	4.88^{c}	4.93^{c}	6.38^{a}	
สัปดาห์ที่ 4	ถุงสุญญากาศ	5.93^{d}	6.89^{b}	7.56^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	5.59^{e}	5.82^{d}	6.51^{c}	
เดือนที่ 2	ถุงสุญญากาศ	6.05^{c}	7.07^{b}	7.75^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	6.00^{c}	6.41^{c}	7.50^{ab}	
เดือนที่ 3	ถุงสุญญากาศ	7.5^{d}	7.63^{c}	9.46^{a}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	7.14^{f}	7.21^{e}	9.33^{b}	

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 7 ร้อยละความชื้นตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

เวลา	อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	ร้อยละความชื้น	
		ถุงสุญญากาศ	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์
เริ่มต้น	SN-F	3.42^{o}	3.91^{ij}
	SN-M	3.48^{o}	3.64^{j}
	SN-S	5.65^{j}	5.67^{ef}
สัปดาห์ที่ 1	SN-F	4.61^{n}	4.00^{hi}
	SN-M	4.75^{m}	3.87^{ij}
	SN-S	5.65^{j}	5.69^{ef}
สัปดาห์ที่ 2	SN-F	4.88^{c}	4.65^{g}
	SN-M	5.43^{k}	4.31^{h}
	SN-S	5.85^{i}	5.77^{ef}
สัปดาห์ที่ 3	SN-F	5.63^{j}	4.88^{g}
	SN-M	6.49^{g}	4.93^{g}
	SN-S	6.52^{g}	6.38^{d}
สัปดาห์ที่ 4	SN-F	5.93^{hi}	5.59^{f}
	SN-M	6.89^{f}	5.82^{ef}
	SN-S	7.56^{cd}	6.51^{d}
เดือนที่ 2	SN-F	6.05^{h}	6.00^{e}
	SN-M	7.07^{e}	6.41^{d}
	SN-S	7.75^{b}	7.50^{b}
เดือนที่ 3	SN-F	7.50^{d}	7.14^{c}
	SN-M	7.63^{bc}	7.21^{bc}
	SN-S	9.46^{a}	9.33^{a}
P-value		0.00	0.00

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำอิสระ (aw) ของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์

เวลา	ชนิดบรรจุภัณฑ์	ปริมาณน้ำอิสระ (aw)			P-value
		SN-F	SN-M	SN-S	
เริ่มต้น	ถุงสุญญากาศ	0.376^{ab}	0.401^{a}	0.360^{ab}	0.002
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.357^{ab}	0.397^{a}	0.352^{ab}	
สัปดาห์ที่ 1	ถุงสุญญากาศ	0.331^{d}	0.343^{cd}	0.358^{b}	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.358^{b}	0.347^{bc}	0.375^{a}	
สัปดาห์ที่ 2	ถุงสุญญากาศ	0.370^{a}	0.325^{bc}	0.352^{ab}	0.007
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.358^{ab}	0.306^{c}	0.392^{a}	
สัปดาห์ที่ 3	ถุงสุญญากาศ	0.353^{bc}	0.364^{b}	0.384^{a}	0.001
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.349^{bcd}	0.330^{d}	0.336^{cd}	
สัปดาห์ที่ 4	ถุงสุญญากาศ	0.378^{a}	0.345^{b}	0.373^{a}	0.000
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.335^{b}	0.279^{c}	0.325^{b}	
เดือนที่ 2	ถุงสุญญากาศ	0.387^{b}	0.440^{a}	0.455^{a}	0.000
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.368^{b}	0.381^{b}	0.391^{b}	
เดือนที่ 3	ถุงสุญญากาศ	0.443^{c}	0.496^{a}	0.474^{b}	0.000
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	0.349^{d}	0.319^{e}	0.352^{d}	

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำอิสระ (aw) ตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

เวลา	อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	ปริมาณน้ำอิสระ (aw)	
		ถุงสุญญากาศ	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์
เริ่มต้น	SN-F	0.376^{efg}	0.357^{cdef}
	SN-M	0.401^{de}	0.397^{a}
	SN-S	0.360^{ghi}	0.352^{defg}
สัปดาห์ที่ 1	SN-F	0.332^{jk}	0.358^{cdef}
	SN-M	0.343^{ijk}	0.347^{efgh}
	SN-S	0.358^{ghi}	0.375^{abcd}
สัปดาห์ที่ 2	SN-F	0.370^{efgh}	0.358^{cdef}
	SN-M	0.325^{k}	0.306^{j}
	SN-S	0.352^{hij}	0.392^{ab}
สัปดาห์ที่ 3	SN-F	0.353^{hij}	0.349^{defgh}
	SN-M	0.364^{fghi}	0.330^{ghij}
	SN-S	0.384^{efg}	0.336^{fghi}
สัปดาห์ที่ 4	SN-F	0.378^{efg}	0.335^{fghi}
	SN-M	0.345^{ijk}	0.279^{k}
	SN-S	0.373^{efgh}	0.325^{hij}
เดือนที่ 2	SN-F	0.387^{def}	0.368^{bcde}
	SN-M	0.440^{d}	0.381^{abc}
	SN-S	0.455^{bc}	0.391^{ab}
เดือนที่ 3	SN-F	0.443^{c}	0.349^{defgh}
	SN-M	0.496^{a}	0.319^{ij}
	SN-S	0.474^{b}	0.351^{defgh}
P-value		0.00	0.00

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 10 ปริมาณอะฟลาทอกซินในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์

เวลา	ชนิดบรรจุภัณฑ์	Aflatoxin (ppb)			P-value
		SN-F	SN-M	SN-S	
เริ่มต้น	ถุงสุญญากาศ	2.07^{a}	1.66^{a}	2.53^{a}	0.156
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	1.21^{a}	1.37^{a}	2.49^{a}	
สัปดาห์ที่ 1	ถุงสุญญากาศ	3.56^{b}	3.93^{a}	3.37^{bc}	0.002
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	3.13^{bcd}	2.66^{d}	3.01^{cd}	
สัปดาห์ที่ 2	ถุงสุญญากาศ	6.73^{bc}	9.43^{a}	8.17^{ab}	0.001
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	4.65^{d}	5.33^{cd}	6.87^{bc}	
สัปดาห์ที่ 3	ถุงสุญญากาศ	7.00^{b}	9.64^{a}	8.41^{ab}	0.003
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	4.80^{c}	6.47^{bc}	8.07^{ab}	
สัปดาห์ที่ 4	ถุงสุญญากาศ	10.53^{ab}	10.93^{ab}	12.77^{a}	0.085
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	7.67^{b}	8.12^{b}	8.53^{b}	
เดือนที่ 2	ถุงสุญญากาศ	10.47^{c}	15.80^{b}	18.45^{a}	0.000
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	8.48^{d}	8.87^{cd}	10.43^{c}	
เดือนที่ 3	ถุงสุญญากาศ	11.62^{d}	16.27^{b}	18.47^{a}	0.000
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	8.63^{e}	9.10^{e}	13.53^{c}	

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 11 ปริมาณอะฟลาทอกซินตลอด 3 เดือนในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

เวลา	อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	Aflatoxin (ppb)	
		ถุงสุญญากาศ	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์
เริ่มต้น	SN-F	2.07^{hi}	1.21^{i}
	SN-M	1.66^{i}	1.37^{i}
	SN-S	2.53^{hi}	2.48^{i}
สัปดาห์ที่ 1	SN-F	3.56^{hi}	3.13^{hi}
	SN-M	3.93^{h}	2.66^{i}
	SN-S	3.37^{hi}	3.01^{hi}
สัปดาห์ที่ 2	SN-F	6.73^{g}	4.65^{gh}
	SN-M	9.43^{def}	5.33^{fg}
	SN-S	8.17^{fg}	6.87^{def}
สัปดาห์ที่ 3	SN-F	7.00^{g}	4.80^{gh}
	SN-M	9.64^{cdef}	6.47^{efg}
	SN-S	8.41^{efg}	8.07^{cde}
สัปดาห์ที่ 4	SN-F	10.53^{cd}	7.67^{cde}
	SN-M	10.93^{bcd}	8.12^{cde}
	SN-S	12.77^{b}	8.53^{bcd}
เดือนที่ 2	SN-F	10.47^{cde}	8.48^{bcd}
	SN-M	15.80^{a}	8.87^{bcd}
	SN-S	18.45^{a}	10.43^{b}
เดือนที่ 3	SN-F	11.62^{bc}	8.63^{bcd}
	SN-M	16.27^{a}	9.10^{bc}
	SN-S	18.47^{a}	13.53^{a}
P-value		0.000	0.000

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตอนที่ 3 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ

ผลิตภัณฑ์สูตรสุดท้ายที่ได้จากการแปรรูปให้แห้งด้วยเครื่อง Drum dryer นำมาวิเคราะห์หาปริมาณ ไขมัน (fat) โปรตีน (protein) ใยอาหารหยาบ (fiber) เถ้า (ash) และคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีปริมาณของสารอาหารแตกต่างกัน ตารางที่ 12 ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ มีปริมาณไขมัน โปรตีน ใยอาหารหยาบ เถ้า และคาร์โบไฮเดรตที่แตกต่างกันยิ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value 0.00) ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 (SN-F) มีปริมาณ ไขมัน โปรตีน และใยอาหารหยาบน้อยที่สุด คือ 5.38 21.68 และ 6.46 ตามลำดับ จากตารางที่ 13 แสดงให้เห็นปริมาณของแร่ธาตุที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ ได้แก่ ธาตุแคลเซียม (ca) ธาตุเหล็ก (Fe) ธาตุฟอสฟอรัส (p) และวิตามินบี 12 (B12) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีปริมารสารอาหารที่แตกต่างกัน ดังนี้ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีปริมาณขาตุแคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.074, 0.253 และ 0.093 ตามลำดับ) วิตามินบี 12 สามารถตรวจวัดได้ในเฉพาะในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด SB-MYP1 เท่ากับ 0.38 ug/100g

ตารางที่ 12 ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ก่อนและหลังกระบวนการแปรรูป

ชนิดตัวอย่าง	moisture	fat	protein	fiber	ash	carbohydrate
SN-F	5.08^{c}	5.38^{c}	21.68^{c}	6.46^{b}	3.85^{a}	57.55^{a}
SN-M	8.42^{a}	7.54^{a}	22.27^{b}	9.65^{a}	3.72^{b}	48.40^{c}
SN-S	5.82^{b}	6.44^{b}	22.81^{a}	6.49^{b}	3.79^{a}	54.65^{b}
p-value	0.00	0.00	0.00	0.00	0.006	0.00

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 13 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุและวิตามินของอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก (functional fermented soybean snack bar)

อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	calcium (Ca) (mg/kg)	iron (Fe) (mg/kg)	phosphorus (p) (mgl)	vitamin B12 (ug/100g)
SN-F	1,577.00[b]	40.21[a]	2,619.00[a]	0.38
SN-M	1,738.50[ab]	45.41[a]	3,052.50[a]	<0.1
SN-S	1,997.50[a]	41.26[a]	3,091.50[a]	< 0.1
P-value	0.074	0.253	0.093	-

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตอนที่ 4 ผลการวิเคราะห์ทางด้านจุลินทรีย์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ

ตารางที่ 14 ผลการวิเคราะห์หาแบคทีเรียทั้งหมดในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ พบว่าจำนวนแบคทีเรียที่ตรวจนับได้ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีจำนวนสูงกว่า 6.00 Log cfu/g และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (p-value =0.00) นำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวบรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด คือ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ ที่สภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจาก 1 สัปดาห์นำไปวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด พบว่ามีจำนวนเพิ่มมากขึ้น ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสูงสุด คือ บรรจุในถุงสุญญากาศ เท่ากับ 6.67 Log cfu/g และบรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ เท่ากับ 6.57 Log cfu/g จากข้อมูลตารางที่ 15 พบว่าจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยด์มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดน้อยกว่าที่บรรจุในถุงสุญญากาศ และพบว่าผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดเพิ่มขึ้นและแตกต่างยิ่งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P-value = 0.00) ตลอดระยะเวลา 3 เดือน จากตารางพบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) มีจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่ทำจากกล้าเชื้อแบบสด และ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

ตารางที่ 14 ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable bacteria) ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักในบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์

เวลา	ชนิดบรรจุภัณฑ์	Log cfu/g			ระดับมาตรฐาน (Log cfu/g)	P-value
		SN-F	SN-M	SN-S		
เริ่มต้น	ถุงสุญญากาศ	6.17^{c}	6.30^{b}	6.55^{a}	ไม่เกิน 6.00	0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	6.18^{c}	6.22^{c}	6.35^{b}		
สัปดาห์ที่ 1	ถุงสุญญากาศ	6.34^{c}	6.46^{b}	6.67^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	6.28^{c}	6.48^{b}	6.57^{ab}		
สัปดาห์ที่ 2	ถุงสุญญากาศ	6.68^{c}	7.01^{a}	7.10^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	6.37^{d}	6.67^{c}	6.86^{b}		
สัปดาห์ที่ 3	ถุงสุญญากาศ	7.03^{d}	7.45^{b}	7.67^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	6.77^{e}	7.07^{d}	7.27^{c}		
สัปดาห์ที่ 4	ถุงสุญญากาศ	7.65^{d}	8.06^{ab}	8.25^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	7.29^{e}	7.81^{cd}	8.00^{bc}		
เดือนที่ 2	ถุงสุญญากาศ	10.07^{c}	10.72^{b}	11.59^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	9.65^{c}	9.82^{c}	10.57^{b}		
เดือนที่ 3	ถุงสุญญากาศ	14.50^{c}	16.40^{b}	16.82^{a}		0.00
	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	12.16^{f}	12.59^{e}	13.12^{d}		

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 15 ระดับการปนเปื้อนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total viable bacteria) ตลอด 3 เดือน ในผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก

เวลา	อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก	Log cfu/g		ระดับมาตรฐาน (Log cfu/g)
		ถุงสุญญากาศ	ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์	
เริ่มต้น	SN-F	6.17^{l}	6.18^{q}	ไม่เกิน 6.00
	SN-M	6.30^{kl}	6.22^{pq}	
	SN-S	6.55^{jk}	6.35^{op}	
สัปดาห์ที่ 1	SN-F	6.34^{kl}	6.28^{pq}	
	SN-M	6.46^{jk}	6.48^{no}	
	SN-S	6.67^{j}	6.57^{mn}	
สัปดาห์ที่ 2	SN-F	6.68^{j}	6.37^{op}	
	SN-M	7.01^{i}	6.67^{lm}	
	SN-S	7.10^{i}	6.86^{k}	
สัปดาห์ที่ 3	SN-F	7.03^{i}	6.77^{kl}	
	SN-M	7.45^{h}	7.07^{j}	
	SN-S	7.67^{h}	7.27^{i}	
สัปดาห์ที่ 4	SN-F	7.65^{h}	7.29^{i}	
	SN-M	8.06^{g}	7.81^{h}	
	SN-S	8.25^{g}	8.00^{g}	
เดือนที่ 2	SN-F	10.07^{f}	9.65^{f}	
	SN-M	10.72^{e}	9.82^{e}	
	SN-S	11.59^{d}	10.57^{d}	
เดือนที่ 3	SN-F	14.50^{c}	12.16^{c}	
	SN-M	16.40^{b}	12.59^{b}	
	SN-S	16.83^{a}	13.12^{a}	
P-value		0.00	0.00	

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin

SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตอนที่ 5 ผลการวิเคราะห์หาอายุการเก็บรักษาอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ

ผลการทดสอบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้น (% moisture) และสารพิษอะฟลาทอกซินเป็นดัชนีที่สำคัญที่บอกถึงอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ตารางที่ 16-17 ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีอายุการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ยาวนานกว่าการบรรจุด้วยถุงสุญญากาศ และผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F) มีอายุการเก็บรักษายาวนานที่สุด คือ พิจาณาตามเกณฑ์ปริมาณความชื้นในมาตรฐานแผ่นถั่วเน่าต้องไม่เกินร้อยละ 13 พบว่า SN-F ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์มีอายุการเก็ยรักษายาวนานที่สุด 142 และ 166 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับเมื่อพิจารณาตามเกณฑ์การปนเปื้อนของสารอะฟลาทอกซินต้องไม่เกิน 20 ppb พบว่า SN-F ที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์มีอายุการเก็ยรักษายาวนานที่สุด 110 และ 119 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) มีอายุการเก็บรักษาสั้นที่สุดทั้งที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ โดยที่เมื่อพิจาณาตามปริมาณความชื้น SN-S มีอายุการเก็บรักษาในถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 135 วัน และ 137 วัน ตามลำดับ ตามเกณฑ์การปนเปื้อนของปริมาณสารอะฟลาทอกซิน SN-S มีอายุการเก็บรักษาในถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 87 วัน และ 103 วัน จากตารางพบว่า ผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F) ตามเกณฑ์ปริมาณความชื้นมีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้า *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) ทั้งที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 32 วัน และ 47 วัน ตามลำดับ และตามเกณฑ์ของปริมาณสารอะฟลาทอกซินผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 (SN-F) มีอายุการเก็บรักษายาวนานผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour (SN-S) ทั้งที่บรรจุด้วยถุงสุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ 48 วัน และ 34 วัน ตามลำดับ

ตารางที่ 16 แสดงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก ด้วยระดับมาตรฐานความชื้น

ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก	**อายุการเก็บรักษา (วัน)**	
	ถุงสุญญากาศ	**ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์**
SN-F	142[a]	166[a]
SN-M	141[a]	156[b]
SN-S	135[b]	137[c]
p-value	0.001	0.000

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด B.SUBTILIS SB-MYP1
SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin
SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour
P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 17 แสดงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก ด้วยระดับมาตรฐานอะฟลาทอกซิน

ผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมัก	**อายุการเก็บรักษา (วัน)**	
	ถุงสุญญากาศ	**ถุงอะลูมิเนียมฟอยด์**
SN-F	110[a]	119[a]
SN-M	91[b]	118[a]
SN-S	87[c]	103[b]
p-value	0.000	0.000

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด B.SUBTILIS SB-MYP1
SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin
SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour
P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตอนที่ 6 ผลการทดสอบการยอมรับอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ 3 รูปแบบ

นำผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ทั้ง 3 รูปแบบมาประเมินทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-point hedonic scale แล้วนำผลคะแนนจากการประเมินที่ได้มาแปลผลทางสถิติ โดยทดสอบ F-test และ Duncan's Multiple Range Test เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านความชอบหรือการยอมรับของผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ ประเมินผลจากผู้ทดสอบจำนวน 30 คน พบว่า (ตารางที่ 18) อาหารขบเคี้ยวจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour ผู้บริโภคให้การยอมรับสูงสุดและแตกต่างจาก ขนมขบเคี้ยวจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และขนมขบเคี้ยวจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ในรูปกล้าเชื้อสด

ตารางที่ 18 คะแนนรวมจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ประเมิน 30 คน

คุณลักษณะ	อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก			ค่ารวมทั้งหมด
	SN-F	SN-M	SN-S	
ความชอบโดยรวม	156	173	180	509

หมายเหตุ : SN-F = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด B.SUBTILIS SB-MYP1
SN-M = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin
SN-S = อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ B.SUBTILIS SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour

ตารางที่ 19 ผลการทดสอบ F-test จากคะแนนที่ผู้ประเมินให้ในแต่ละตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ

Source of variation	df	SS	MS	F-value
ตัวอย่าง	2	10.15	5.075	2.35
ผู้ประเมิน	29	202.987	7	3.24
ความคลาดเคลื่อน	58	125.18	2.16	
รวมทั้งหมด	89	338.32		

หมายเหตุ :df = ค่าองศาอิสระ
SS = ผลบวกของคะแนนเบี่ยงเบน
MS = ค่าความแปรปรวน
F-value = ค่าสถิติเอฟ

บทที่ 4
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก เป็นหนึ่งในโครงการวิจัยภายใต้ชุดโครงการเทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก ซึ่งชุดโครงการนี้เป็นผลการวิจัยต่อเนื่องจากโครงการ การลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักโดยการใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นกล้าเชื้อในการหมัก นำมาพัฒนาต่อยอดเป็นกล้าเชื้อผงหรืออยู่ในรูปแบบที่สามารถเก็บรักษาได้ง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้งาน เป็นหนึ่งในผลการวิจัยภายใต้ชุดโครงการดังกล่าว โดยผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักเกิดจากการนำผลการวิจัยภายใต้ชุดโครงการ เดียวกันที่ได้ข้อสรุปว่ากล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour ซึ่งกล้าเชื้อทั้ง 2 รูปแบบนี้ได้ผ่านการวิจัยแล้วพบว่าเมื่อนำไปทำการหมักถั่วเหลืองจะส่งผลให้กระบวนการหมักมีความสำ่เสมอและมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ โปรติเอสและอะไมเลส เช่นเดียวกับกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1 มาทำการหมักถั่วเหลือง และนำถั่วหมักจากกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งจากผลการทดลองและพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ได้สูตรต้นแบบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก มีส่วนผสมที่ประกอบด้วย fermented soybean 30%, sucrose 20%, soybean flour 10%, salt 0.50% งาขาว 1.00% งาดำ 1.00% และน้ำสะอาด 37.50% และผ่านกรรมวิธีในการทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง (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), กล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin (SN-M) และกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย 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 $\mu g/100g$ ตามลำดับ และทำการตรวจวัดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงสุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ สำหรับการหาอายุการเก็บตามจากผลการทดลองได้พิจารณาตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าแผ่นที่มีการติดตามปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซิน ได้ข้อสรุปว่าผลิตอาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมักได้พิจารณาอายุการเก็บที่ยึดตามเกณฑ์ความเสี่ยงสูงสุดสารอะฟลาทอกซินที่อนุญาตให้พบได้ไม่เกิน 20 ppb พบว่าผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ มีอายุการเก็บรักษายาวนานกว่าบรรจุภัณฑ์แบบถุงสุญญากาศ โดยผลิตอาหารขบเคี้ยวที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 3 รูปแบบ มีอายุการเก็บรักษา SN-F = 119, SN-M = 118 และ SN-S = 103 วัน เมื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพ ที่ผ่านการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour มากที่สุด

ดังนั้นจากผลการวิจัยพัฒนาเพื่อหาสูตรต้นแบบในการแปรรูปผลิตภัณฑ์ถั่วหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพที่ง่ายต่อการบริโภคและเป็นที่ยอมรับมากกว่าถั่วหมัก ได้ว่าการกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย 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 และเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงสุดการผลิตภัณฑ์ดังกล่าวควรบรรจุด้วยถุงอะลูมิเนียมฟอยด์ที่ช่วยชะลอทั้งปริมาณความชื้นและสารอะฟลาทอกซินให้ผลิตภัณฑ์มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยผลของสารยึดเกาะของกล้าเชื้อ ทำให้ทราบถึงความเป็นไปได้ในการใช้รูปแบบของกล้าเชื้อด้วยสารประกอบจากวัตถุดิบ (ถั่วเหลือง) ที่ใช้ในการหมักเองได้ ซึ่งสะดวกต่อผู้ประกอบการที่จะใช้ในการผลิต และการจัดการดูแลรักษากล้าเชื้อง่ายขึ้น ที่สำคัญสามารถควบคุมคุณภาพมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ถั่วหมักได้

บรรณานุกรม

กองโภชนาการ กรมอนามัย. (2530). ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. องค์การทหารผ่านศึก.

กองโภชนาการ กรมอนามัย. (2535). ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย. องค์การทหารผ่านศึก.

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

ยุพร พืชกมุทร. (2550). การใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลือง. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง 15 (2) : 34-41.

วิไล รังสาดทอง. (2546). เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

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.

Inatsu, Y., et al. (2006). Characterization of *Bacillus subtilis* strains in Thua nao, a traditional fermented soybean food in northern Thailand. Letters in Applied Microbiology. 43: 237-242.

Petchkongkaew, A., Taillandier, P., Gasaluck, P., and Lebrihi1, A. (2008). Isolation of *Bacillus* spp. from Thai fermented soybean (Thua-nao): screening for aflatoxin B1 and ochratoxin A detoxification. Journal of Applied Microbiology. 104: 1495-1502.

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

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน แผ่นถั่วเน่า (มผช. 509/2547)

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน แผ่นถั่วเน่า (มผช. 509/2547) มีรายละเอียดและคุณลักษณะที่ต้องการดังต่อไปนี้

ตารางที่ 20 คุณลักษณะและข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ชุมชนแผ่นถั่วเน่า

ขอบข่าย	มาตรฐานผลิตภัณฑชุมชนนี้ครอบคลุมแผนถั่วเนาที่บรรจุในภาชนะบรรจุ
บทนิยาม	เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำถั่วเหลืองมาล้างให้สะอาด นำไปแช่น้ำ แล้วทำให้สุกเติมเกลือหมักทิ้งไว้จนถั่วเหลืองเป็นยางและเปลี่ยนสี นำไปบดทำเป็นแผ่นแล้วทำให้แห้งด้วยแสงแดด หรือพลังงานอื่นๆ
ลักษณะทั่วไป	ในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องมีขนาดใกล้เคียงกัน แห้ อาจแตกหักได้บ้างเล็กน้อย
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของแผ่นถั่วเน่า
กลิ่น	ต้องมีกลิ่นตามธรรมชาติของแผ่นถั่วเน่า ปราศตากกลิ่นอื่นที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นหืน กลิ่นอับ เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนน และต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า 3 คะแนน และไม่มีลักษณะใดใดได้ 1 คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง
สิ่งแปลกปลอม	ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ดินทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์
ความชื้น	ต้องไม่เกินร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก
อะฟลาทอกซิน	ต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ภาคผนวก ข

อายุการเก็บ

การวิเคราะห์อายุการเก็บสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารขบเคี้ยวเสริมสุขภาพจากถั่วหมัก สามารถคำนวณหาอายุการเก็บรักษาโดยใช้ข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ชุมชนถั่วแผ่นเน่าเป็นมาตรฐานควบคุม 2 เกณฑ์ ได้แก่

1. ปริมาณความชื้น ต้องไม่เกินร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก
2. ปริมาณอะฟลาทอกซิน ต้องไม่เกิน 20 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม

ตัวอย่างการคำนวณหาอายุการเก็บรักษา

โดยใช้ปริมาณความชื้นและปริมาณสารพิษอะฟลาท็อกซินเป็นดัชนีคุณภาพดังนี้

(1.) ใช้ปริมาณความชื้นเป็นดัชนีคุณภาพ

First order reaction :

จากสูตร $$k = \frac{\ln Q_0 - \ln Q}{t}$$

เมื่อ Q = ค่าคุณภาพที่เหลือหลังเวลา t

Q_0 = ค่าคุณภาพเริ่มต้น

t = ระยะเวลาที่ใช้

k = ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยา

- หาค่าคงที่ของการเกิดปฏิกิริยา (k) ของผลิตภัณฑ์ขนมขบเคี้ยวจากถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อ SB-MYP1 ในรูปกล้าเชื้อสด บรรจุด้วยถุงสูญญากาศ ที่อุณหภูมิ 25 ˚C

ปริมาณความชื้นเริ่มต้น เท่ากับร้อยละ 3.91

ปริมาณความชื้นเดือนที่ 3 เท่ากับร้อยละ 7.14

แทนค่า $$k = \frac{\ln (3.91) - \ln (7.14)}{84 \text{ day}}$$

$$= - 0.00717 \text{ day}^{-1}$$

- หาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

  กำหนดให้การเสื่อมเสียมีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 13 โดยน้ำหนัก

  จากสูตร $$t_s = \frac{\ln Q_0 - \ln Q_e}{k}$$

  เมื่อ t_s = อายุการเก็บ

  Q_e = ค่าคุณภาพเมื่อเวลาของอายุการเก็บ

  แทนค่า $$t_s = \frac{\ln (3.91) - \ln (13.00)}{-0.00717 \ day^{-1}}$$

  $$= 167 \ day$$

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์การยอมรับของผลิตภัณฑ์ต่อผู้บริโภค (sensory)

ตารางที่ 21 คะแนนการยอมรับผลิตภัณฑ์จากผู้ทดสอบ

ผู้ทดสอบหมายเลข	ผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง			รวม
	SN-F	SN-M	SN-S	
1	5	6	6	17
2	6	6	7	19
3	5	5	5	15
4	5	6	5	16
5	5	6	6	17
6	7	6	9	22
7	1	1	1	3
8	5	6	7	18
9	7	8	9	24
10	4	4	3	11
11	5	2	8	15
12	4	6	8	18
13	6	7	7	20
14	3	8	4	15
15	6	5	3	14
16	6	5	7	18
17	7	6	8	21
18	6	8	9	23
19	7	5	4	16
20	7	6	8	21
21	1	5	5	11
22	4	8	7	19
23	6	8	7	21
24	2	5	7	14
25	7	8	6	21
26	5	6	8	19
27	8	7	5	20
28	8	6	4	18
29	1	4	2	7
30	7	4	5	16
รวม	**156**	**173**	**180**	**509**

การวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน

Correction factor = (ค่ารวมทั้งหมด)^2/หน่วยทั้งหมดที่ทำให้เกิดค่ารวมทั้งหมด

(ค่าปรับ) = $(509)^2/90$ = 2,878.68

Sample SS = (ผลรวมของค่ารวมของแต่ละตัวอย่างยกกำลังสอง)/(หน่วยที่ทำให้เกิดค่ารวมของแต่ละตัวอย่าง) – ค่าปรับ

= $[(156^2 + 173^2 + 180^2)/30] - 2,878.68$

= 10.15

Panelists SS = (ผลรวมของค่ารวมของผู้ทดสอบชิมแต่ละท่านยกกำลังสอง)/(หน่วยที่ทำให้เกิดค่ารวมของผู้ชิมแต่ละท่าน) – ค่าปรับ

= $[(17^2 + 19^2 + 15^2 + ... + 16^2)/3] - 2,878.68$

= 203

Total SS = (ผลรวมของค่าการประเมินในแต่ละตัวอย่างของแต่ละผู้ทดสอบชิมยกกำลังสอง) – ค่าปรับ

= $(5^2 + 6^2 + 6^2 + ... + 5^2) - 2,878.68$

= 338.32

Error SS = Total SS – SS Sample – SS panelists

= 338.32 – 10.15 – 203

= 125.17

ทดสอบ F-test

Source of variation	df	SS	MS	F-value
ตัวอย่าง	2	10.15	5.075	2.35
ผู้ประเมิน	29	202.987	7	3.24
ความคลาดเคลื่อน	58	125.18	2.16	
รวมทั้งหมด	89	338.32		

ผลิตภัณฑ์ทั้ง 3 สูตรมีความแตกต่างในด้านความชอบของผลิตภัณฑ์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99 ดังนั้นการทดสอบว่าตัวอย่างใดที่มีความแตกต่างจึงต้องทำการทดสอบโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test ดังนี้

สิ่งทดลองที่		1	2	3
คะแนนของตัวอย่าง	=	150	173	180
ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง	=	คะแนนของตัวอย่าง/จำนวนของผู้ทดสอบชิม		
	=	5	5.77	6

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างถูกนำมาเรียงจากมากไปหาน้อยใหม่ดังนี้

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง	=	สิ่งทดลองที่ 3	สิ่งทดลองที่ 2	สิ่งทดลองที่ 1
		6	5.77	5

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง (Standard error of sample mean)

$$SE = \sqrt{\text{MS error / Number of judgements for each sample}}$$

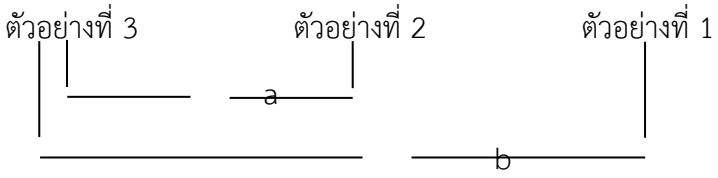
$$= \sqrt{(2.16/30)} = 0.27$$

ค่า “shortest significant range” สำหรับค่าเฉลี่ย 2 ค่า 3 ค่าสามารถหาได้จากการหาค่าของ “Studentized range ; rp” มาก่อนจากตารางสถิติ (Significant studentized ranges for 5% and 1% New Multiple range Test) สำหรับที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และร้อยละ 99 ตามลำดับ

ในกรณีนี้ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จะได้ค่า rp จากตารางสถิติ (Significant studentized ranges for 5% and 1% New Multiple range Test) ที่ df 60 เมื่อได้ค่า rp แล้วนำค่าดังกล่าวมาคูณด้วยค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง (Standard error of sample mean) จะได้ค่า “shortest significant range; rp” ดังแสดง

	5%		**1%**	
P	2	3	2	3
rp	2.83	2.96	3.76	3.92
Rp	0.76	0.80	1.02	1.06

ในการเปรียบเทียบหาความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างกับค่า shortest significant range สามารถกระทำได้ง่ายและควรเป็นระบบโดยการเปรียบเทียบ ทั้งนี้วิธีการวิเคราะห์ของ shortest significant range มีดังนี้



ช่วง (Range) a = 3

B = 2

การเปรียบเทียบระหว่าง

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 – ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 = 6 – 5.77 = 0.23 < 0.80

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 – ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 1 = 6 – 5 = 1 > 0.76

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2– ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 1 = 5.77 – 5 = 0.77 > 0.76

จากข้อนี้สรุปว่า ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 มีความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

และการเปรียบเทียบระหว่าง

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 – ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 = 6 – 5.77 = 0.23 < 1.06

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 – ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 1 = 6 – 5 = 1 < 1.02

ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 2 – ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 1 = 5.77 – 5 = 0.77 < 1.02

จากข้อนี้สรุปว่า ค่าเฉลี่ยของตัวอย่าง 3 มีความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของตัวอย่างอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 99

ตัวอย่างที่ 3	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 1
a	b	

โดยที่ ตัวอย่างที่ 3 คือ อาหารขบเคี้ยวจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย soybean flour ตัวอย่างที่ 2 คือ อาหารขบเคี้ยวจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 ผงด้วย maltodextrin และตัวอย่างที่ 1 คือ อาหารขบเคี้ยวจากถั่วหมักด้วยกล้าเชื้อสด *B. subtilis* SB-MYP1

ประวัติผู้วิจัย

<u>หัวหน้าโครงการ</u>

นางปิยะวรรณ กาสลัก

นางปิยะวรรณ กาสลัก เกิดเมื่อวันที่ 12 เดือนมีนาคม พ.ศ.2502 ณ จังหวัดนครราชสีมา ปัจจุบันดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สังกัดสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2523 จบการศึกษาระดับปริญญาโท (Biotechnology and Biochemistry) จาก Mie University ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2536 และจบการศึกษาระดับปริญญาเอก (Applied Sciences and Biotechnology) จาก Mie University ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2539

นางปิยะวรรณ กาสลัก ได้มีผลงานางวิชาการดังต่อไปนี้

Gasaluck, P., Lumprai, S. and Chaiwat, K. 2012. Microbial and heavy metal contamination monitoring of ready-to eat food in Nakhon Ratchasima province. International Journal of Food, Nutrition and Public Health Vol.5 pp. 213-223

Thitikorn, M. and Gasaluck, P. 2011. Effect of Freeze-drying and maltodextrin matrix on Poly-γ-glutamic acid (PGA) productivity from Bacillus subtilis starter powder. In Proceeding International Food Conference “Life Improvement through Food Technology” Surabaya, October 28th-29th pp. 80-85

Natthida, C. and Gasaluck, P. 2011. Bacteriocin production and its crude characterization of lactic acid bacteria isolates from pickled Garcinia schomburgkiana pierre.Asian Journal of Food and Agro-Industry. 4(01) pp. 54-64

Natthida, C. and Gasaluck, P. 2010. Bacteriocin production and its crude characterization of Lactic acid bacteria isolates from pickled Garcinia schomburgkiana Pierre. In Proceeding of 12th Food Innovation Asia Conference on Indigenous Food Research and Development to Global Market). BITEC, Bangkok, Thailand. June 17-18, pp. 640-649

Natthida, C. and Gasaluck, P. 2010. Morphological changes of *Bacillus cereus* TISTR 687 cells induced by crude bacteriocin producing Lactococcus lactis ssp. lactis 1. In Proceeding of 22nd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology (TSB): International Conference on Biotechnology for Healthy Living. Prince of Songkla University, Trang Campos, Thailand. October 20-22.

Petchkongkaew, A., Taillandier,P., Gasaluck, P., and Lebrihi, A. 2008. Isolation of *Bacillus* spp. from Thai Fermented Soybean (Thua-nao): Screening for Aflatoxin B1 and Ochratoxin A detoxification. Journal of Applied Microbiology Vol.104 (No.5) 1495- 1502 (8)

Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Gasaluck, P., and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial Properties and Action of Galangal (Alpinia galanga Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT Food Science and Technology (39) 1214-1220

Thongbai, B., Gasaluck, P., and Waites, W. M. 2006. Morphological changes of temperature- and pH-stressed Salmonella following exposure to cetylpyridinium chloride and nisin. LWT - Food Science and Technology. (39) 1180-1188

Thongbai, B., Waites, W. M. and Gasaluck, P. 2005. The susceptibility of Bioluminescent *Salmonella typhimurium* Contaminating Chicken Carcases to Cetylpyridinium Cholide and Nisin. Kasetsart Journal: Natural Science October-December 2005. Vol. 39 No. 4 (622-632)

Gasaluck, P. 1999. The Development of the Curricula of Food Technology of Suranaree University of Technology (SUT). In Proceedings of the International Workshop on University Education, Research and in Asia-Pacific Region, Mie University Press, April 6 and 7

Gasaluck, P., Yokoyama, K., Kimura, T. and Sugahara, I. 1996. The occurrence of Bacillus cereus in Local Thai Traditional Foods. J. Antibact. Antifung. Agents Vol 24. No. 5 (349-356)

Gasaluck, P., Yokoyama, K., Kimura, T. and Sugahara, I. 1996. Some Chemical and Microbiological Properties of Thai Fish Sauce and Paste. J. Antibact. Antifung. Agents Vol 24. No. 6, (385-390)

Chinzei, Y., Gasaluck, P., et al. 1995. “A Study of Three Endemic Diseases in Rural Areas of Northeast Thailand.” International Scientific Research Program (Grant No. 04041057), Mie University, School of Medicine.

Gasaluck, P. 1994. “Thai Fermented Fish Sauce.” In Proceedings of the International Seafood Research Meeting of Mie University, Mie Academic Press, September 30.

Hibasami, H., Midorikawa, Y., Gasaluck, P., Tsukada, T., Shirakawa, S., Yoshimura, H., Imai, M., Nakashima, K. 1992. Growth Inhibition of Canida By 15-Deoxyspergualin, an Immunosuppressive Agent Used In Experiment Organ Transplantation. Letters in Applied Microbiology. Vol 14 (81-83)

Hibasami, H., Midorigawa, Y., Gasaluck, P., Yoshimura, H., Masuji, A., Takaji, S., Nakasahima, K., Imai M. 1991. Bactericidal Effect of 15-Deoxyspergualin, on Staphylococcus aureus. J. Chemotherapy Vol. 37 (202-205)

Midorigawa, Y., Hibasami, H., Gasaluck, P., Yoshimura, H., Masuji, A., Nakashima, K. and Imai, M. 1991. Evaluation of the Antimicrobial Activity of Methyglyoxal B(Guanylhydrazone) Analogdes, The Inhibitors for Polyamine Biosynthetic pathway. J. Applied. Bacteriol Vol 70 (291-293)

Gasaluck, P., Midorigawa, Y., Imai, M. and Yoshimura, H. 1990. Enteropathogenic E.coli (ETEC) Isolation in Northeast Thailand and Their Resistance to Antibiotics. Mie Medical Journal Vol 40 (3):379-384.

Thongrajai, P., Chanarat, P., Kulapongs, P., Chanarat, N., Gasaluck, P. and Kaewpila, S. 1988. Epidermiological Assessment of Anti-HIV I Anti-bodies in Thailand, Sounteast Asian J.Trop.Med.Pub.Hith Vol 19. No. 4 Dec.

Thongrajai, P., Chanarat, P., Kulapongs, P., Chanarat, N. and Gasaluck, P. 1988. Seroepidemiology of Anti-HIV I Antibodies. In Thailand, Srinagarind Hospital Medicine Vol 3. No. 4, Oct-Dec.

Thongrajai, P., Gasaluck, P. et al. 1986. Detection of Anti-Rota Virus Secretory IgA by ELISA. The Second Annual Meeting on Faculty of Medicine Khon Kaen University.

Thongrajai, P., Gasaluck, P. et al., 1986. Diarrhoea in Children in Rural Thailand. 1986. A Full research report to the USAID Department of Microbiogy Faculty of Medicine Khon Kaen University.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการ: การจัดทำระบบ GMP สำหรับน้ำปรุงรสผัดหมี่ 2555

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย : โครงการเรื่อง “การลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยการใช้ *Bacillus subtilis* เป็นกล้าเชื้อในการหมัก” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย : โครงการเรื่อง “การเฝ้าระวังการปนเปื้อนจุลินทรีย์และโลหะหนักในอาหารสำเร็จรูป เพื่อจำหน่ายในเขตจังหวัดนครราชสีมา” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย : โครงการเรื่อง “สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการหมักผลเชอร์รี่เปรี้ยว (*Prunus cerasus* L.)” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการเรื่อง “การศึกษาผลการเติม แคลเซียมเบนโทไนต์ ในอาหารสัตว์ต่อการดูดซับสารพิษจากเชื้อรา” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการ “การพัฒนากุนเชียงไขมันต่ำ” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการ “การยืดอายุการเก็บรักษาขนมถั่วกวนอบเทียน” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย การศึกษาอายุการเก็บของขนมถั่วอบเทียน 2552

นางปิยะวรรณ กาสลัก ผู้ร่วมโครงการวิจัย โครงการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในโรงฆ่าสุกร การขนส่งจากโรงฆ่าไปยัง จุดจำหน่าย และแหล่งจำหน่ายเนื้อสุกร ในเขตจังหวัดนครราชสีมาและอุบลราชธานี 2552

นางปิยะวรรณ กาสลัก ผู้ร่วมโครงการวิจัยการวิจัย สถานการณ์ความปลอดภัยด้านผักและผลไม้กรณีตลาดนัด-รถเร่ (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง) 2548

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย การใช้ไนซินในการยับยั้งการงอกของสปอร์ *Clostridium* spp. ที่คัดแยกมาจากชิ้นปลาที่บรรจุในสภาวะการปรับเปลี่ยนบรรยากาศ 2544

ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัด นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422 - 4270 โทรสาร 0-4422 – 4387

Email address: **piyawan@sut.ac.th**

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ เกิดเมื่อวันที่ 7เดือน กันยายน พ.ศ. 2508 ปัจจุบันดำรงตำแหน่ง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วท.บ. (พยาบาล) จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2530 จบการศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร จาก Dalhousie University ประเทศเคนาดา เมื่อปี พ.ศ. 2543 และจบการศึกษาระดับปริญญาเอก วท.ด. (เทคโนโลยีอาหาร) จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุนารี เมื่อปี พ.ศ. 2549

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ ได้มีผลงานางวิชาการดังต่อไปนี้

Singthong, J., Oonsivilai, R., Oonmetta-aree., and Ningsanond, S. 2014. Bioactive compounds and encapsulation of Yanang (Tiliacora Triandra) leaves. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. Vol. 931-932: 76 – 84.

Chaicharoenaudomrung, N., Oonsivilai, A., Oonsivilai, R. 2014. Chlorophylls contents in Echinocactus grusonii extract. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1507-1511.

Samruan, W., Gasaluck, P., and Oonsivilai, R. 2014. Total phenolics and flavonoid contents of soybean fermentation by Bacillus subtilis SB-MYP-1. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1587 – 1591.

Chirinang, P., Oonsivilai, R., and Kulrattanarak, T. 2014. Ultrasound assisted extraction for preparation dietary fiber from cassava pulp. Advanced Materials Research. Vol. 931-932: 1502 -1506.

Samruan, W. Oonsivilai, A., and Oonsivilai, R. 2012. Soybean and fermented soybean extract antioxidant activities. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 72: 1169-1172

Oonsivilai, R., Oonsivilai, A., and Piwondee, A. 2012. Effect of Rang Chuet Extract on Rat Liver Xenobiotic-Metabolizing Enzyme. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal.. 72: 1142-1144.

Singthong j., R. Oonsivilai, J. Oonmetta-aree, S. Ningsanond. 2012. Phytochemical profiles, antioxidant activity, and cytotoxicity of Cissampelos pareira (Krueo Ma Noy) extract on Caco-2 cells. The 14th Food Innovation Asia Conference 2012. BITEC, Bangna, Bangkok, June 14-15, Poster Presentation.

Posridee, K., Sripa, B., Jitsomboon, B. and Oonsivilai, R. 2012. The Sub-chronic oral toxicity study of Rang Chute extracts. IFT Annual Meeting 2012, Las Vegas, USA, June 23-29, Poster Presentation.

Oonsivilai, R., Singthong, J. Oonmetta-aree, J., and Ningsanond, S. 2012. Bioactivity, antioxidant activity, and cytotoxicity of Yanang, Kreu-Ma Noy, and Rang Chuet extracts. IFT Annual Meeting 2012, Las Vegas, USA, June 23-29, Poster Presentation.

Oonsivilai, R., Chanphuak, C., Srisutor, P., Kulrattanarak, T., Sutheerawattananond, M., and Oonsivilai, A. 2011. Dietary Fiber Prepared from Cassava byproduct. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 1120-1123.

Oonsivilai, R., Manatwiyangkool, J. and Oonsivilai, A. 2011. Extraction Condition of Phaseolus vulgaris. . World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 60: 382-385.

Singthong, J. **Oonsivilai, R**., Oonmetta-aree., and Ningsanond, S. 2011. Phytochemical profile, antioxidant activity and cytotoxicity of Tiliacora triandra (Colebr.) Diels. (Yanang) extracts on Caco-2-cells. The 5th Thailand Congress of Nutrition 2011. September 5-7. Oral Presentation.

Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R. 2011. Acute oral toxicity study of *Thunbergia laurifolia* Linn. Extracts**.** Asean Food Conference 2011. June, 16-18.

Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R. 2011. Modification of method for phaseolamin extraction from white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). Asean Food Conference 2011. June, 16-18.

Posridee, K., Sripa, B. Jitsomboon, B., and **Oonsivilai, R. The acute oral toxicity determination (LD50) of Rang Chute extract. 3rd SUT Graduate Conference. November 21-23, 2010.

Manatwiyangkool, J. **Oonsivilai, R. 2010. Phaseolamin in white kidney beans (Phaseolus vulgaris.). 4th Thailand Congress of Nutrition. Sep, 5-7.EX-P-11(P33).

R. Oonsivilai, N. Chaijareonudomroung, Y. Huantanom., and A. Oonsivilai. 2010. Extraction condition of *Echinocactus grusonii*. World Academy of Science, Engineering and Technology Journal. 70: 366: 369.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2010. Differential evolution application in temperature profile of fermenting. WSEAS TRANSACTION on SYSTEMS. Issue. ISSN: 1109-2777. Issue 6(9): 618-628.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2010. Temperature profiling during fermenting processing differential evolution. Proceeding of the 9th WSEAS International conference on energy and environment. February 23-25, Cambridge, London

Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2009. A genetic algorithm application in natural cheese products. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 1, Vol 8, January, ISSN : 1109 – 2777, pp: 44 – 54.

Oonsivilai, R and Oonsivilai, A. 2008. Apply a genetic algorithm to natural cheese product. Proceeding of the 8th WSEAS International conference on applied computer science (ACS'08). ISSN 1790 – 5109, pp: 269 – 274.

Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R**. 2008 Parameter Estimation of Frequency Response Twin-Screw Food Extrusion Process using Genetic Algorithm. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 7 Volume 7, July, ISSN: 1109 – 2777

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2008. Genetic Algorithm Approach to Twin-Screw Food Extrusion Process Frequency Domain Parameter Estimation. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Applied Computer & Applied Computational Science (ACACOS' 08), Hangzhou, China, April 6-8. pp: 645 – 650.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (Thunbergia laurifolia Lindl.) Extracts. As. J. Food Ag-Ind. 1(02): pp 116 – 128.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) Extracts. Presented at FoSTAT 2007. BITEC, June 14-15, Bangkok, Thailand.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Bomser, J.A., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Phytochemical profiling and detoxification properties of *Thunbergia Laurifolia* Lindl (Rang Chuet) extracts. Journal of Ethnopharmacology 114: 300– 306.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. 2006. Induction of quinone reductase activity in murine hepatoma cells by extracts of *Thunbergia Laurifolia* Lindl. *FASEB Journal*. Vol. 20, no. 4, Part 1: A154

Speers, R. A., Patelakis, S.J.J., A. T. Paulson, and **Oonsivilai, R**. 2004. Shear rate during brewing operations. MBAA TQ vol. 41, no. 3, pp. 241-247.

Oonsivilai, R., Speers, R.A. and Paulson, A.T. 2000. Effects of pH, maltose and ethanol on the physical properties of model beta-glucan suspensions. Presented at IOB 2000, Institute of Brewing, Asia-Pacific Section 26th Convention, Mar. 19-24, Singapore, SGP.

Oonsivilai, R. Patelakis, S.J.J., Speers, R.A., and Paulson, A.T. 1999. Rheological and filtration properties of beta-glucan polymers in the brewing process. CIFST Annual Meeting, Presentation #OR-12, June 6-9, Kelowna, BC.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของถั่วเหลืองและถั่วขาวที่ผ่านการหมัก 2556

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การเตรียมสารสกัดอุดมด้วยวิตามินซีจากหัวไชเท้า ทุนวิจัย สกว. 2550

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจี่ยวกู้หลาน ทุนวิจัย SUT-UBI

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ iTAP: การเตรียมโรงงานเพื่อขอการรับรองระบบ GMP

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ UBI: การยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ iTAP: โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างเครื่องซักผ้า

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การศึกษาการปรับแต่งกระบวนการหมักเบียร์ที่เหมาะสมโดยใช้ profile ของอุณหภูมิเป็นตัวกำหนด

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์เคอรี่พัพฟ์

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ UBI: การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำจิ้มสุกี้

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดรางจืดย่านางและ เครือหมาน้อย

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การศึกษาพิษกึ่งระยะยาวของสารสกัดรางจืด

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ iTAP: การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาเห็ดกึ่งสำเร็จรูป

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การสกัดฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของไกลโคไซด์จากกระบองเพชรและลีลาวดี

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การเตรียมสารสกัดน้ำมันเมล็ดทับทิมด้วยวิธีสกัดเย็น

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ ผู้เชี่ยวชาญโครงการ iTAP : การผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่จากสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ หัวหน้าโครงการ การประยุกต์ใช้ neural network สำหรับหาค่าความเข้มข้นวิกฤตในสารละลาย beta-glucan แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนวิจัยอาจารย์ใหม่ 2543

ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
จังหวัด นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422 - 4232 โทรสาร 0-4422 – 4387
Email address: roonsivi@sut.ac.th