

## สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	1
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	2
สารบัญเรื่อง.....	3
สารบัญตาราง.....	5
สารบัญรูป.....	7
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ.....	11
บทที่ 1 บทนำ.....	12
วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป.....	16
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	16
บทที่ 2 วิธีการทดลอง.....	17
2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของวัสดุเหลือทิ้ง.....	17
2.2 การทดสอบการผลิตสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9.....	17
2.3 การคัดเลือกชนิดของวัสดุเหลือทิ้งที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตสารยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9.....	17
2.4 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารยับยั้ง.....	18
2.5 การศึกษาปริมาณกากถั่วเหลืองและเวลาที่ใช้ในการต้มที่เหมาะสม.....	18
2.6 ศึกษาการสร้างสารยับยั้งในอาหารกากถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลือง.....	18
2.7 การศึกษา pH และ อุณหภูมิ ที่เหมาะสมเบื้องต้น.....	18
2.8 ศึกษาค่า pH อุณหภูมิ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นและอัตราการเขย่าที่เหมาะสมระดับฟลอสก์.....	19
2.9 การศึกษาการเจริญและการสร้างสารยับยั้งในถังหมักขนาด 2 ลิตร.....	20
2.10 การศึกษาการเจริญและการสร้างสารยับยั้งในถังหมักขนาด 5 ลิตร.....	20
บทที่ 3 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	21
3.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของวัสดุเหลือทิ้ง.....	21
3.2 ผลการทดสอบการผลิตสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9.....	23
3.3 ผลการคัดเลือกวัสดุเหลือทิ้งที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสารยับยั้ง.....	23

## สารบัญเรื่อง (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3.4 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการสร้างสารยับยั้ง .....	30
3.5 ผลการศึกษาปริมาณกากถั่วเหลืองและเวลาที่ใช้ในการต้มที่เหมาะสม.....	33
3.6 ศึกษาการสร้างสารยับยั้งในอาหารกากถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลือง.....	37
3.7 การศึกษา pH และ อุณหภูมิ ที่เหมาะสมเบื้องต้น.....	38
3.8 ศึกษาสภาวะการหมักที่เหมาะสม ได้แก่ pH อุณหภูมิ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นและ อัตราการใช้ในระดับฟลาสก์.....	40
3.9 ผลการเจริญและการสร้างสารยับยั้งในถังหมักขนาด 2 ลิตร .....	67
3.10 ผลการศึกษากการเจริญและการสร้างสารยับยั้งในถังหมักขนาด 5 ลิตร .....	71
บทที่ 4 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	74
เอกสารอ้างอิง .....	76
ภาคผนวก.....	80

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	แสดงผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของวัสดุเหลือทิ้ง..... 21
2	แสดงปริมาณโปรตีนและน้ำตาลทั้งหมดของอาหารเลี้ยงเชื้อจากวัสดุเหลือทิ้งต่างๆ หลังจากปรับความเข้มข้นของโปรตีนหรือน้ำตาลให้เทียบเท่ากับในอาหาร TSB..... 25
3	แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอาหารวัสดุเหลือทิ้ง 8 ชนิดต่อการเจริญของ เชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่เวลา 24 ชั่วโมง ..... 26
4	แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของอาหารสูตรใหม่เปรียบเทียบกับ อาหารน้ำต้มกากถั่วเหลือง..... 31
5	แสดงปริมาณโปรตีนและปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำต้มกากถั่วเหลืองที่ความเข้มข้น และเวลาการต้มต่างๆเปรียบเทียบกับอาหาร TSB ..... 34
6	แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นและเวลาการต้มกากถั่วเหลือง ต่อการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่ 24 ชั่วโมง ..... 35
7	แสดงค่ากิจกรรมการยับยั้ง, การเจริญ และ pH ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่เลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ ในอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลือง ..... 41
8	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์กิจกรรม การยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 24 ชั่วโมง..... 43
9	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์ กิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง ..... 47
10	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อ..... 52
11	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง ..... 54
12	แสดงค่ากิจกรรมการยับยั้ง, การเจริญ และ pH ที่ 24 และ 48 ชั่วโมงของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในสภาวะต่าง ๆ ในอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลือง ในการออกแบบการทดลองครั้งที่ 2 แบบ CCD..... 58
13	ค่าสถิติของสมการคาดการณ์ผลการทดลอง..... 59
14	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์กิจกรรม การยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 24 ชั่วโมง..... 60

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
15	แสดงค่าจริงที่ได้จากการทดลองและค่าคาดการณ์จากโปรแกรมของค่ากิจกรรมการยับยั้งที่ 24 ชั่วโมง..... 62
16	แสดงค่าทางสถิติ (ค่า coefficient, F-value และ p-value) ในการวิเคราะห์กิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง ..... 63
17	แสดงค่าจริงที่ได้จากการทดลอง และค่าคาดการณ์จากโปรแกรมของค่ากิจกรรมการยับยั้งที่ 48 ชั่วโมง..... 65
ตารางภาคผนวกที่	
1	แสดงค่าการดูดกลืนแสงของกลูโคสที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ..... 82

## สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1	แสดงลักษณะการเกิด โชนัยบั้งของน้ำหมักจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ในอาหารเหลว Tryptic Soy Broth (TSB) ต่อเชื้อทดสอบ <i>Bacillus megaterium</i> ..... 23
2	แสดงการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 เมื่อบ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อจากวัสดุเหลือทิ้งต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 200 รอบต่อนาที..... 26
3	แสดงกิจกรรมของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่บ่มในอาหารจากวัสดุเหลือทิ้งต่างๆ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 200 รอบต่อนาที..... 28
4	แสดงค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจากวัสดุเหลือทิ้งต่างๆ เมื่อเลี้ยงเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 200 รอบต่อนาที..... 30
5	แสดงการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ในอาหารน้ำนิ่งปลาทูน่าผสมกับเวย์ และอาหารน้ำนิ่งปลาทูน่าผสมกับกากน้ำตาล เปรียบเทียบกับในอาหารน้ำดื่มกากถั่วเหลือง โดยหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 200 รอบต่อนาที..... 32
6	แสดงกิจกรรมการยับยั้ง (AU/ml) ของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่เลี้ยงในอาหาร..... 33
7	แสดงการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ในอาหารน้ำดื่มกากถั่วเหลืองที่เตรียมจากกากถั่วเหลือง 30, 50 และ 80 กรัม และต้มเป็นเวลา 3, 5 และ 10 นาที บ่มโดยเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 35
8	แสดงกิจกรรมการยับยั้ง (AU/ml) ของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ในอาหารน้ำดื่มกากถั่วเหลืองที่เตรียมจากกากถั่วเหลือง 30, 50 และ 80 กรัม และต้มเป็นเวลา 3, 5 และ 10 นาที บ่มโดยเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 36
9	แสดงกิจกรรมการยับยั้ง (AU/ml) ของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ในอาหารน้ำดื่มกากถั่วเหลืองที่เตรียมจากกากถั่วเหลือง 50 กรัม และต้มเป็นเวลา 10 นาที บ่มโดยเขย่าที่ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 38
10	แสดงการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่บ่มในน้ำดื่มกากถั่วเหลือง ในสถานะที่มีค่า pH และอุณหภูมิต่างๆ..... 39
11	แสดงกิจกรรมการยับยั้ง (AU/ml) ของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ที่บ่มในน้ำดื่มกากถั่วเหลืองในสถานะที่มีค่า pH และอุณหภูมิต่างๆกัน..... 40

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
12	แสดงปัจจัยอุณหภูมิที่มีผลต่อการเกิดกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองที่ 24 ชั่วโมง ..... 44
13	แสดงปัจจัยความเร็วในการเขย่าที่มีผลต่อการเกิดกิจกรรมการยับยั้ง ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองที่ 24 ชั่วโมง ..... 45
14	กราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) ของการเกิดกิจกรรมการยับยั้ง ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอุณหภูมิ และความเร็วในการเขย่าร่วมกัน ..... 46
15	แสดงปัจจัยอุณหภูมิที่มีผลต่อการเกิดกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองที่ 48 ชั่วโมง ..... 48
16	แสดงปัจจัยความเร็วในการเขย่าที่มีผลต่อการเกิดกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองที่ 48 ชั่วโมง ..... 49
17	แสดงปัจจัย pH อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีผลต่อการเกิดกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เลี้ยงในอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองที่ 48 ชั่วโมง ..... 49
18	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของการเกิดกิจกรรม การยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัย ด้านความเร็วในการเขย่าและอุณหภูมิร่วมกัน ..... 50
19	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของการเกิดกิจกรรมการยับยั้ง ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอุณหภูมิ และ pH ของอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองร่วมกัน ..... 50
20	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของการเกิดกิจกรรมการยับยั้ง ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยความเร็วในการเขย่า และ pH ของอาหารน้ำต้มกากั่วเหลืองร่วมกัน ..... 51
21	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของการเจริญของ เชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 24 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านความเร็วในการเขย่า และอุณหภูมิร่วมกัน ..... 53

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
22	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของการเจริญของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอุณหภูมิและความเร็วในการเขย่าร่วมกัน..... 56
23	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 24 ชั่วโมง ต่ออุณหภูมิ และอัตราการเขย่า ..... 61
24	ค่าอุณหภูมิ และอัตราการเขย่าที่คาดว่าจะให้ค่ากิจกรรมการยับยั้งสูงสุดที่ 24 ชั่วโมงบนกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง..... 62
25	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) ของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่เวลา 48 ชั่วโมง ต่ออุณหภูมิ และอัตราการเขย่าที่เวลา 48 ชั่วโมง ..... 64
26	ค่าอุณหภูมิและอัตราเร็วในการเขย่าที่คาดว่าจะให้ค่ากิจกรรมการยับยั้งสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง บนกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง ..... 65
27	แสดงค่าอุณหภูมิและอัตราการเขย่าที่คาดว่าจะให้ค่าการเจริญสูงสุดที่ 24 ชั่วโมงบนกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยมีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 7.68 และปริมาณหัวเชื้อ 1%..... 66
28	แสดงค่าอุณหภูมิและอัตราการเขย่าที่คาดว่าจะให้ค่าการเจริญสูงสุดที่ 48 ชั่วโมงบนกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง โดยมีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 8 และปริมาณหัวเชื้อ 1%..... 67
29	แสดงกราฟพื้นที่ผิวตอบสนอง (response surface) ของการเกิดกิจกรรมการยับยั้งของเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ที่ 48 ชั่วโมง เมื่อพิจารณาปัจจัยด้านอุณหภูมิและ pH ของอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลืองร่วมกัน ..... 68
30	แสดงการเจริญและกิจกรรมของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ในอาหารน้ำต้มกากถั่วเหลืองเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ต้ม 10 นาที ปริมาตร 1.5 ลิตร ในถังหมักขนาด 3 ลิตร และสภาวะที่เหมาะสม โดยให้อากาศ 1 VVM อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที ..... 69
31	การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและ pH ในถังหมักขนาด 3 ลิตร ..... 70

## สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
32	แสดงการเจริญและกิจกรรมของสารยับยั้งจากเชื้อ <i>Bacillus</i> sp.BK9 ในอาหารน้ำต้ม กากถั่วเหลืองเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ต้ม 10 นาที ปริมาตร 3 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตร และสถานะที่เหมาะสมโดยให้อากาศ 1 VVM อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที.....	72
33	แสดงค่า pH และอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงขณะเลี้ยงเชื้อ <i>Bacillus</i> sp. BK9 ในอาหารน้ำต้ม กากถั่วเหลืองปริมาตร 3 ลิตร ในถังหมักขนาด 5 ลิตรในสถานะที่เหมาะสม โดยให้อากาศ 1 VVM อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที.....	73
รูปภาคผนวกที่		
1	กราฟมาตรฐานกลูโคสที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร .....	82

### คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

VVM	=	Volume of air/volume of media/min
%	=	Percentage
°C	=	Celsius degree
AU/ml	=	Arbitrary unit per milliliter
CFU/g	=	Colony forming unit per grams
(v/v)	=	Volume per volume