

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



246493

รายงานการวิจัย

แนวทางการพัฒนาสูตรอาหารจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อเป็นแหล่ง

ผลิตสารเสริมชีวนะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์

**Medium development from agricultural residues for
probiotics in animal feed industry**



ผู้วิจัย

ยุวพิน ด่านดุสิตาพันธ์ (หัวหน้าโครงการ)

เสาวนีย์ นิลลักษณ์ (ผู้ร่วมโครงการ)

พรรษชล สุทธิกาญจน์ (ผู้ร่วมโครงการ)

งบประมาณหมวดอุดหนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2553



รายงานการวิจัย

แนวทางการพัฒนาสูตรอาหารจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อเป็นแหล่ง

ผลิตสารเสริมชีวนะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์

**Medium development from agricultural residues for
probiotics in animal feed industry**



ผู้วิจัย

ยุวพิน ด่านดุสิตาพันธ์ (หัวหน้าโครงการ)

เสาวนีย์ นิลลักษณ์ (ผู้ร่วมโครงการ)

พรรษชล สุทธิกาญจน์ (ผู้ร่วมโครงการ)

งบประมาณหมวดอุดหนุนโครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2553

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัย ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาโรงงานต้นแบบ และคณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ และอุปกรณ์วิจัย ในการวิจัย ตลอดโครงการวิจัย ฯ โดยโครงการ ฯ ได้รับงบประมาณหมวดอุดหนุน โครงการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2553 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

แนวทางการพัฒนาสูตรอาหารจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เพื่อเป็นแหล่ง

ผลิตสารเสริมชีวณะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์

บทคัดย่อ

246493

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสม

ขององค์ประกอบอาหารที่

ประกอบด้วยวัสดุทางการเกษตร คือกากถั่วเหลืองสูตร 1 และสูตร 2 (SBM-F1 และ SBM-F 2) ต่อการผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส โดย *Bacillus subtilis* 405 พบว่า กากถั่วเหลืองสูตร 2 (SBM-F 2) ซึ่งประกอบด้วย 15 กรัมต่อลิตร กากถั่วเหลือง, 1 กรัมต่อลิตร แป้งสาลี, 4 กรัมต่อลิตร นมผง, 4 กรัมต่อลิตร ซูโครส, 0.5 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 และ 4 กรัมต่อลิตร ปลาป่น ให้การผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสสูงกว่ากากถั่วเหลืองสูตร 1 จึงนำ SBM-F2 มาศึกษาองค์ประกอบที่มีผลต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสโดยวิธีออกแบบการทดลองแบบแฟคทอเรียล (2^{kP} fractional factorial design) เพื่อคัดเลือกองค์ประกอบอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์โปรติเอส จากนั้นศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมขององค์ประกอบที่สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ โดยการออกแบบการทดลองแบบพื้นผิวผลตอบ (Response Surface Methodology) ด้วยวิธีการออกแบบส่วนประสมกลาง (Central Composite Design)

การศึกษาการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสจาก *B. subtilis* 405 พบว่าปลาป่น และแป้งสาลี เป็นองค์ประกอบที่มีอิทธิพลต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 99% ($p<0.01$) และความเข้มข้นที่เหมาะสมของปลาป่นและแป้งสาลีคือ 24.22 และ 45.46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ โดยสามารถผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสได้เท่ากับ $1,528\pm 1$ หนึ่งต่อมิลลิลิตร ใช้เวลาหมัก 6 วัน

Medium development from agricultural residues for probiotics in animal feed industry

Abstract

246493

The objective of work was to study the optimal composition of Soy Bean Meal Formulae 1 and 2 media (SBM-F1 and SBM-F 2) which contained agricultural materials for alkaline protease production by *Bacillus subtilis* 405. The comparison in two formulae was found that SBM-F2, containing 15 g/L SBM, 1g/L wheat flour, 4 g/L milk powder, 4 g/L sucrose, 0.5 g/L K_2HPO_4 and 4 g/L fish meal gave higher alkaline protease than SBM-F1. The composition of SBM-F2 was then brought to study the efficient composition for enzyme production by 2^{k-p} fractional factorial design. The optimal concentration of ingredient in the formula was studied by Response Surface Methodology with Central Composite Design.

It was concluded that fish meal and wheat flour were an important factors for alkaline protease production by *B. subtilis* 405 at significant level of 99% ($p<0.01$). The optimal concentrations of fish meal and wheat flour were 24.22 and 45.46 g/L, respectively. The highest of alkaline protease was obtained at $1,528\pm 1U/ml$, after 6 days cultivation.

สารบัญเรื่อง

	หน้า
หน้าปก	1
กิตติกรรมประกาศ	2
บทคัดย่อภาษาไทย	3
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	4
สารบัญเรื่อง	5-6
สารบัญตาราง	7
สารบัญรูป	8
บทที่ 1 บทนำ	9-10
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	11-18
2.1 การใช้จุลินทรีย์เสริมชีวนะในอาหารสัตว์	11
2.2 กลไกการทำงานของสารเสริมชีวนะ	12
2.3 ชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นสารเสริมชีวนะ	13
2.4 แบคทีเรียที่เป็นสารเสริมชีวนะ	13
2.5 การใช้เอ็นไซม์เป็นสารเสริมชีวนะ	17
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย	19-22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	22-37
4.1 การผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสโดย <i>B.subtilis</i> 405 บนอาหาร SBM สูตร 1 และ 2	23
4.1.1 อาหาร SBM สูตร 1 (SBM-F1)	23
4.1.1.1 อัลคาไลน์โปรติเอส	23
4.1.1.2 การเจริญเติบโตของเซลล์	24
4.1.1.3 การใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	24
4.1.1.4 ค่า pH	25
4.1.2 อาหาร SBM สูตร 2 (SBM-F2)	26
4.1.2.1 อัลคาไลน์โปรติเอส	26
4.1.2.2 การเจริญเติบโตของเซลล์	26
4.1.2.3 การใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด	27
4.1.2.4 ค่า pH	28

4.2 การผลิตอัลคาไลน์โปรตีนโดย <i>B.subtilis</i> 405 บนอาหาร SBM สูตร 2 โดยใช้สถิติ ในการคัดเลือกองค์ประกอบอาหาร	29
4.2.1 การผลิตอัลคาไลน์โปรตีนโดย <i>B.subtilis</i> 405	29
4.2.1.1 การทดสอบปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรตีน โดยใช้ Fractional Factorial Design (FFD)	29
4.2.1.2 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรตีนโดยใช้ Response Surface Methodology	31
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	38
บทที่ 6 เอกสารอ้างอิง	39-41

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นสารเสริมชีวนะในประเทศไทย	16
4.1 แสดงค่า pH ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F1 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	25
4.2 แสดงค่า pH ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F2 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	28
4.3 การออกแบบการทดลองและการผลิตอัลคาไลน์โปรตีนในวันที่ 2 และ 5 โดยใช้ Fractional Factorial Design แบบ 2^{6-2}	29
4.4 ผลการวิเคราะห์การถดถอย (regression) สำหรับการผลิตโปรตีนในวันที่ 2 โดยใช้ Fractional Factorial Design แบบ 2^{6-2}	30
4.5 ผลการวิเคราะห์การถดถอย (regression) สำหรับการผลิตโปรตีนในวันที่ 5 โดยใช้ Fractional Factorial Design แบบ 2^{6-2}	31
4.6 การผลิตอัลคาไลน์โปรตีนโดย <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหารสูตร SBM-F2 ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มข้นที่แตกต่างกันของ SBM และ KH_2PO_4	32
4.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้ CCD แบบ 2^2 สำหรับการผลิตอัลคาไลน์โปรตีนในวันที่ 7	32
4.8 การผลิตอัลคาไลน์โปรตีนโดย <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหารสูตร SBM-F2 ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มข้นของปลาป่นและแป้งสาลีที่แตกต่างกัน	35
4.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้ CCD แบบ 2^2 สำหรับการผลิตอัลคาไลน์โปรตีนในวันที่ 6	35

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
4.1 แสดงการผลิตเอ็นไซม์โปรติเอสของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F1 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	23
4.2 แสดงจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F1 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	24
4.3 แสดงการใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F1 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	25
4.4 แสดงการผลิตเอ็นไซม์โปรติเอสของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F2 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	26
4.5 แสดงจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F2 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	27
4.6 แสดงการใช้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ของ <i>B.subtilis</i> 405 ในอาหาร SBM-F2 และ KMP ในสภาวะเขย่า (200 rpm) และไม่เขย่า ที่อุณหภูมิ 30 °C	27
4.7 แสดงรูปร่างและพื้นผิวของกราฟ 3 มิติ ที่เกี่ยวกับความเข้มข้นของ SBM และ KH_2PO_4 ต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอส ที่อัตราการกวน 200 rpm, 30 °C ในวันที่ 7	33
4.8 แสดงรูปร่างและพื้นผิวของกราฟ 3 มิติ ที่เกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของปลาป่นและแป้งสาลีต่อการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสที่อัตราการกวน 200 rpm, 30 °C ในวันที่ 6	36