เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร, 2552, **สบู่ดำ**. [online], Available: http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=15 [31 มีนาคม 2552].

คณะกรรมการกลุ่มผลิตชุดวิชาวิทยาศาสตร์การผลิตพืช, 2547, **เอกสารการสอนชุดวิทยาศาสตร์การผลิตพืช = Science in crop production**, มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, นนทบุรี, หน้า 213-246.

จวงจันทร์ ดวงพัตรา, 2529, **การตรวจสอบและวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดพันธุ์**, กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ, หน้า 47-158.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2548, **จุลชีววิทยาทั่วไป**, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพ, หน้า 85-96 และ 343-356.

นันทนภัส เทพสำราญ, 2549, **การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสบู่ดำ (*Jatropha curcas* L.)**, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.

รยากร นกแก้ว, วิทยา ปั้นสุวรรณ และพิลาณี ไวถนอมสัตย์, 2550, "การศึกษาความเป็นพิษและการลดพิษของน้ำมันสบู่ดำโดยการดูดซับ", **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์**, ครั้งที่ 45, หน้า 68-75.

ระพีพันธุ์ ภาสบุตร และสุขสันต์ สุทธิผลไพบูลย์, 2543, **การใช้สบู่ดำกับเครื่องยนต์ดีเซลในไร่นา** [online], Available: http://agritech.doae.go.th/actech/techno/other/SABUDUM/6sabudum.doc [28 ธันวาคม 2551].

รังษี เจริญสถาพร และอมรรัชฎ์ คิดใจเดียว, 2548, "การใช้ประโยชน์จากสบู่ดำ: นอกจากน้ำมัน", **เอกสารในการประชุมเสนอกิจกรรมวิจัยสบู่ดำ กรมวิชาการเกษตร**, วันที่ 29 มิถุนายน 2548, สถาบันวิจัยพืชไร่, หน้า 1-8.

วิทยา ปั้นสุวรรณ, รยากร นกแก้ว, พิลาณี ไวถนอมสัตย์ และกมลชัย ตรงวานิชนาม, 2549, การศึกษาฟอร์บอลเอสเทอร์ในส่วนต่าง ๆ ของสบู่ดำและการหาตัวดูดซับฟอร์บอล เอสเทอร์ในน้ำมันสบู่ดำ. **โครงการสัมมนาวิชาการเรื่องการประชุมวิชาการสบู่ดำแห่งชาติ ครั้งที่ 1**, หน้า 252 – 257.

สุวลี โล่วิรกรณ์, 2548, **ถั่วเหลืองกับสุขภาพ**. วารสารศูนย์บริการปี 2548 [online], Available: http://uac.kku.ac.th/journal/year13_1_2548/05_13_1_2548.pdf [28 ธันวาคม 2551].

Achnine, L., Huhman, D.V., Farag, M.A., Sumner, L.W., Blount, J.W. and Dixon, R.A., 2005, "Genomics-based selection and functional characterization of triterpene glycosyltransferases from the model legume *Medicago truncatula*", **The Plant Journal**, Vol. 41, pp. 875–887.

Aderibigbe, A.O., Johnson, C.O.L.E. and Makkar, H.P.S., 1997, "Chemical composition and effect of heat on organic matter- and nitrogen-degradability and some antinutritional component of *Jatropha* meal", **Animal Feed Science and Technology**, Vol. 67, pp. 223-243.

Adolf, W., Opferkuch, H.J. and Hecker, E., 1984, "Irritant phorbol derivatives from four *Jatropha* species", **Phytochemistry,** Vol. 23, pp. 129–132.

Akintayo, E.T., 2004, "Characteristics and composition of *Parkia biglobbossa* and *Jatropha curcas* oils and cakes", **Bioresource Technology**, Vol. 92, pp. 307-310.

Adler-Nissen, J., 1979, "Dertermination of the degree of hydrolysis of food proteins hydrolysates by trinitrobenzenesulfonic Acid", **Journal of Agricultural and Food Chemistry,** Vol. 27, pp. 1256-1262.

Adler-Nissen, J., 1993, "Protease", In **Enzyme in Food Processing**, Nagodawithana, T., and Reed, G., (Eds.), Academic Press, San Diego, pp. 159-203.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

Alexander, J., Benford, D., Cockburn, A., Cravedi, J.P., Dogliotti, E., Domenico, A.D., Cruz, M.L.F., Fürst, P., Gremmels, J.F., Galli, C.L., Grandjean, P., Gzyl, J., Heinemeyer, G., Johansson, N., Mutti, A., Schlatter, J., Leeuwen, R.V., Peteghem, C.V. and Verger, P., 2008, "Ricin (from *Ricinus communis*) as undesirable substances in animal feed scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain", **The European Food Safety Authority Journal**, Vol. 726, pp. 1-38.

Ahmed, W.A. and Salimon, J., 2009, "Phorbol ester as toxic constituents of tropical *Jatropha curcas* seed oil", **European Journal of Scientific Research**, Vol.31, pp. 429-436.

Aregheore, E.M., Becker, K. and Makkar, H.P.S., 1998, "Assessment of lectin activity in a toxic and a non-toxic variety of *Jatropha curcas* using latex agglutination and haemagglutination methods and inactivation of lectin by heat treatments", **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Vol. 77, pp. 349-352.

Aregheore, E.M., Becker, K. and Makkar, H.P.S., 2003, "Detoxification of a toxic variety of *Jatropha curcas* using heat and chemical treatments, and preliminary nutritional evaluation with rats", **South Pacific Journal of Natural Science**, Vol. 21, pp. 50-56.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 1995, **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 16th (Ed.), AOAC International, Arlington, Virginia, USA.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2000, **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 17th (Ed.), AOAC International, Washington DC., USA.

Baker, S.E., 2006, "*Aspergillus niger* genomics: Past, present and into the future", **Medical Mycology**, Vol. 44, pp. S17-S21.

Begg, J. and Gaskin, T., 1994, ***Jatropha curcas* L.** [online], Avialable: http://www.inchem.org/documents/pims/plant/jcurc.htm, [2011, January 31].

Belewu1, M. A. and Sam, R., 2010, "Solid state fermentation of *Jatropha curcas* kernel cake: proximate composition and antinutritional components", **Journal of Yeast and Fungal Research**, Vol. 1, pp. 44-46.

Berndt, K.D., Gunntert, P., Orbons, L.P.M. and Wuthrich, K., 1992, "Determination of a high-quality nuclear magnetic resonance solution structure of the bovine pancreatic trypsin inhibitor and comparison with three crystal structures", **Journal of Molecular Biology**, Vol. 227, pp. 757-775.

Bornscheuer, U.T., 2002, "Microbial carboxyl esterases: classiccation, properties and application in biocatalysis", **FEMS Microbiology Reviews**, Vol. 26, pp. 73-81.

Barros, C.R.M., Ferreira, L.M.M., Nunes, F.M., Bezerra, R.M. F., Dias, A.A., Guedes, C.V., Cone, J.W., Marques, G.S.M. and Rodrigues, M.A.M., 2011, "The potential of white-rot fungi to degrade phorbol esters of *Jatropha curcas* L. seed cake", **Engineering in Life Sciences**, Vol. 11, pp. 107–110.

Budowski, G., 1987, "Living fences in tropical America: a widespread agroforestry practice", In **Agroforestry Realities, Possibilities and Potentials;** Gholz, H.L. (Ed.), Martinus Nijhoff, Dordrecht, pp. 169-178.

Casey, A. and Walsh, G., 2004, "Identification and characterization of a phytase of potential commercial interest", **Journal of Biotechnology**, Vol. 110, pp. 313–322.

China Feed Industry Information, **Phytase**, [Online], Available: http://www.challenge.com.cn/english/2007/1015/article_13.html, [2009, August 19].

Chivandi, E., Mtimuni, J.P., Read, J.S. and Makuza, S.M., 2004, "Effect of processing method on phorbol esters concentration, total phenolics, trypsin inhibitor activity and the proximate composition of the Zimbabwean *Jatropha curcas* provenance: a potential livestock feed", **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Vol. 7, pp. 1001-1005.

Chivandi, E., Kachigunda, B., and Fushai, F., 2005, "A comparison of the nutrient and antinutrient composition of industrially processed Zimbabwean *Jatropha curcas* and *glycine max* meals", **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Vol. 8, pp. 49-53.

Dao, T.H. and Hoang, K.Q., 2008, "Dephosphorylation and quantification of organic phosphorus in poultry litter by purified phytic-acid high affinity *Aspergillus* phosphohydrolases", **Chemosphere**, Vol. 72, pp. 1782-1787.

Delgado, M.J.L. and Parado, E.T., 1989, "Potential multipurpose agroforestry crops identified for the Mexican topiçs", In **New Crops for Food and Industry**, Wickens, G.E., Haq, N. and Day, P. (Eds.), Chapman and Hall, London, pp. 166-173.

Devappa, R.K and Swamylingappa, B., 2008, "Biochemical and nutritional evaluation of *Jatropha* protein isolate prepared by steam injection heating for reduction of toxic and antinutritional factors", **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Vol. 88, pp. 911–919.

Donnell, D.O., Wang, L., Xu, J., Ridgway, D., Gu, T. and Young, M.M., 2001, "Enhanced heterologous protein production in *Aspergillus niger* through pH control of extracellular protease activity", **Biochemical Engineering Journal**, Vol. 8, pp. 187–193.

El-Batal, A.I.H. and Karem, A., 2001, "Phytase production and phytic acid reduction in rapeseed meal by *Aspergillus niger* during solid state fermentation", **Food Research International**, Vol.34, pp. 715–720.

European Bioinformatics Institute, **Inositol polyphosphate kinase** [Online], Available: http://www.ebi.ac.uk/interpro/ISpy?ipr=IPR005522&tax=4751 [2011, Febuary 5].

Francis, G., Makkar, H. P.S. and Becker, K., 2001, "Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish", **Aquaculture**, Vol.199, pp.197–227.

Francis, G., Makkar, H. P. S. and Becker, K., 2005, "Products from little researched plants as aquaculture feed ingredients", **Agrippa** [Electronic], Available: FAO Online Journals [2008, December 28].

Goel, G., Makar, H.P.S., Francis, G. and Becker, K., 2007, "Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals", **International Journal of Toxicology**, Vol. 26, pp. 279-288.

Goonasekera, M. M., Gunawardana, V. K., Jayasena, K., Mohammed, S. G. and Balasubramaniam, S., 1995, "Pregnancy terminating effect of *Jatropha curcas* in rats" **Journal of Ethnopharmacology**, Vol. 47, pp. 117-123.

Gubitz, G.M., Mittelbach, M. and Trabi, M., 1997, **Biofuels and industrial products from *Jatropha curcas***, Graz University of Technology, Austria, pp.190-205.

Gubitz, G.M., Mittelbach, M. and Trabi, M., 1999, "Exploitation of the tropical oil seed plant *Jatropha curcas* L.", **Bioresource Technology**, Vol. 67, pp. 73-82.

Hajos, G., Gelenser E., Pusztai, A., Grant, G., Sakhri, M. and Bardocz, S., 1995, "Biological effects and agglutinin from soybean in the small intestine of the rat", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Vol. 43, pp. 165-170.

Haq, I.U. and Mukhtar, H., 2004, "Biosynthesis of proteases by *Rhizopus oligosporus* IHS13 in low-cost medium by solid-state fermentation", **Journal of Basic Microbiology**, Vol.4, pp. 280–287.

Hasegawa, N., Fukumoto, Y., Minoda, M., Plikomol, A. and Kubo, M., 2002, "Promotion of plant and root growth by soybean meal degradation products", **Biotechnology Letters,** Vol. 24, pp. 1483-1486.

Hass, W. and Mittelbach, M., 2000, "Detoxification experiments with the seed oil from *Jatropha curcas* L.", **Industrial Crops and Products**, Vol. 12, pp. 111-118.

[eller J., 1996, **Physic nut, *Jatropha curcas* L. promoting the conservation and use of nderutilized and neglected crops**, International Plant Genetic Resources Institute, Italy.

[errera, J.M., Siddhuraju, P., Francis, G., Da´vila-Ortı´z, G. and Becker, K., 2006, "Chemical omposition, toxic/antimetabolic constituents, and effects of different treatments on their levels, in ɔur provenances of *Jatropha curcas* L. from Mexico", **Food Chemistry**, Vol.96, pp.80–89.

[asegawa, N., Yamaji, Y., Minoda, M. and Kubo, M., 2003, "Effect of D-methionine or L-ıethionine on root hair of *Brassica rapa*", **Journal of Bioscience and Bioengineering,** Vol. 95, p. 419-420.

kasari, L. and Mitchell, D.A., 1994, "Protease production by *Rhizopus oligosporus* in solid-state ermentation", **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, Vol.10, pp.320-324.

enkins, K.J. and Atwal, A.S., 1994, "Effects of dietary saponins on fecal bile acids and neutral terols and availability of vitamin A and E in the chick", **Journal of Nutritional Biochemistry,** /ol. 5, pp. 134-137.

oshi, C., Mathur, P. and Khare, S.K., 2011, "Degradation of phorbol esters by *Pseudomonas ıeruginosa* PseA during solid-state fermentation of deoiled *Jatropha curcas* seed cake" **3ioresource Technology**, Vol. 102, pp. 4815–4819.

Kubo, M., Okajima, J. and Hasumi, F., 1994, "Isolation and characterization of soybean vaste-degrading microorganisms and analysis of fertilizer effects of the degraded products", **Journal of Applied and Environmental Microbiology**, Vol. 60, pp. 243-247.

Kumar, A. and Sharma, S., 2008, "An evaluation of multipurpose oil seed crop for industrial uses *Jatropha curcas* L.): A review", **Industrial Crop and Products**, Vol. 28, pp. 1-10.

Kumar, V., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2010a, "Detoxified *Jatropha curcas* kernel meal as a lietary protein source: growth performance, nutrient utilization and digestive enzymes in common :arp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings", **Aquaculture Nutrition**, Vol.16, pp. 313-326.

Kumar, V., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2010b, "Nutritional, physiological and haematological responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) juveniles fed detoxified *Jatropha curcas* kernel meal", **Aquaculture Nutrition**, Vol.16, pp. 2063–2072.

Li, C.Y., Devappa, R.K., Liu, J.X., Lv, J.M., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2010, "Toxicity of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice", **Food and Chemical Toxicology**, Vol. 48, pp. 620-625.

Liang, Y., Pan, L. and Lin, Y., 2009, "Analysis of extracellular proteins of *Aspergillus oryzae* grown on soy sauce koji", **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Vol. 73, pp. 192-195.

Liberalin, A.A.A., Bambirra, E.A., Moraes-Santos, T. and Viera, E.C., 1988, "*Jatropha curcas* L. seed: chemical analysis and toxicity", **Arquivos De Biologiae Technologia,** Vol. 31, pp. 539-550.

Liu, K. and Markakis, P., 1989, "Trypsin inhibition assay as related to limited hydrolysis of inhibitors", **Analytical Biochemistry**, Vol.178, pp.159–165.

Loo, V.D.H.M., 1976, "An Improve method for the quantitative determination of hexosamine according to Elson and Morgan", **Analytical Biochemistry**, Vol.76, pp.556-560.

Lowry, O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L. and Pandall R.J., 1951, "Protein measurement with the folin phenol reagent", **Journal of Biological Chemistry,** Vol. 193, pp. 165-170.

Makkar, H.P.S., Becker, K., Sporer, F. and Wink, M., 1997, "Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Vol. 45, pp. 3152-3157.

Makkar, H. P. S., Aderibigbe, A. O. and Becker, K., 1998a, "Comparative evaluation of non-toxic and toxic varieties of *Jatropha curcas* for chemical composition, digestibility, protein degradability and toxic factors", **Food Chemistry**, Vol. 62, pp. 207-215.

Makkar, H.P.S., Becker, K. and Schmook, B., 1998b, "Edible provenances of *Jatropha curcas* from Quintana Roo state of Mexico and effect of roasting on antinutrient and toxic factors in seeds", **Plant Foods for Human Nutrition,** Vol. 52, pp.31–36.

Makkar, H.P.S., Francis, G. and Becker, K., 2008, "Protein concentrate from *Jatropha curcas* screw-pressed seed cake and toxic and antinutritional factors in protein concentrate", **Journal of the Science of Food and Agriculture,** Vol. 88, pp. 1542-1548.

Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2010, "Are *Jatropha curcas* phorbol esters degraded by rumen microbes?", **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Vol. 90, pp. 1562–1565.

Nath, L.K. and Dutta, S.K., 1992, "Wound healing response of the proteolytic enzyme curcain", **Indian Journal of Pharmacology**, Vol. 24, pp. 114-115.

Numaira, K.S.A., Ahmeda, S.E.B., Assafa, A.H.A. and Alamri, M.S., 2009, "Hydrochloric acid extractable minerals and phytate and polyphenols contents of sprouted faba and white bean cultivars" **Food Chemistry**, Vol. 113, pp. 997-1002.

Openshaw, K., 2000, "A review of *Jatropha carcass*: an oil plant of unfulfilled promise", **Biomass and Bioenergy**, Vol. 19, pp. 1-15.

Osbourn, A.E., 1996, "Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack", **The Plant Cell**, Vol. 8, pp. 1821-1831.

Rhee, S.Y., Huala, E., Zhang, P., Dreher, K., Muller, R., Wilks, C., Lee, C., Ploetz, L. and Singh, S., Pathway: triterpene saponin biosynthesis [Online], Available: http://pmn.plantcyc.org/PLANT/NEW-IMAGE?type=PATHWAY&object=PWY2GG-5233 [2011, March 5].

Ramachandran, S., Roopesh, K., Nampoothiri, K.M., Szakacs, G. and Pandey, A., 2005, "Mixed substrate fermentation for the production of phytase by *Rhizopus* spp. using oil cakes as substrates", **Process Biochemistry**, Vol. 40, pp. 1749–1754.

Torres, S., Baigor, M.D., Swathy, S.L., Pandey, A. and Castro, G.R., 2009, "Enzymatic synthesis of banana flavour (isoamyl acetate) by *Bacillus licheniformis* S-86 esterase", **Food Research International**, Vol.42, pp. 454–460.

Saetae, D., and Suntornsuk, W., 2010a, "Antifungal activities of ethanolic extract from *Jatropha curcas* seed cake", **Journal of Microbiology and Biotechnology**, Vol. 20, pp.319–324.

Saetae, D., and Suntornsuk, W., 2010b, "Variation of phorbol ester contents in *Jatropha curcas* from different provinces in Thailand and the application of its seed cake for starter broiler diets", **American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science**, Vol.8, pp. 497-501.

Saetae, D., and Suntornsuk, W., 2011, "Toxic compound, anti-nutritional factors and functional properties of protein isolated from detoxified *Jatropha curcas* seed cake", **International Journal of Molecular Sciences**, Vol. 12, pp.66-77.

Schmook, B. and Seralta-Peraza, L., 1997, "*Jatropha curcas*: In distribution and uses in the Yucatan Peninsula of Mexico", In **Biofuels and Industrial Products from *Jatropha curcas***; Gubitz, G.M., Mittelbach, M., and Trabi, M. (Eds.), DBV Graz, pp. 53–57.

Singh, R. S., Bhari, R., Kaur, H. P. and Vig, M., 2010, "Purification and characterization of a novel thermostable mycelial lectin from *Aspergillus terricola*", **Applied Biochemistry and Biotechnology**, Vol. 162, pp.1339–1349.

Shankar, S.K. and Mulimani, V.H., 2007, "α-Galactosidase production by *Aspergillus oryzae* in solid-state fermentation", **Bioresource Technology**, Vol. 98, pp. 958–961.

Sparringa, R.A. and Owens, J.D., 1999, "Glucosamine content of tempe mould, *Rhizopus oligosporus*", **International Journal of Food Microbiology**, Vol.47, pp. 153–157.

Stiles, A.R. and Grabau, E.A., 2005, "Characterizing steps in phytic acid biosynthesis as targets for manipulating inositol phosphate metabolism in soybean", **Bouyoucos Conference**, 21–24 August, 2005, Idaho, USA.

Sujatha, M., Reddy, T.P. and Mahasi, M.J., 2008, "Role of biotechnological interventions in the improvement of castor (*Ricinus communis* L.) and *Jatropha curcas* L.", **Biotechnology Advances**, Vol. 26, pp. 424-435.

Sumiati, Yusriani,Y., Astuti1, D.A. and Suharti, S., 2009, "Feeding fermented *Jatropha curcas* L. meal supplemented with cellulase and phytase to Kampong chicken", **The 1st International Seminar on Animal Industry**, Faculty of Animal Science, Bogor Agricultural University, Indonesia.

Thomas, O.O., 1989, "Re-Examination of the antimicrobial activities of *Xylopia Aethiopica*, *Carica papaya, Ocimum gratissimum* and *Jatropha curcas*", **Fitoterapia**, Vol. 60, pp. 147-155.

Tsai, Y.C., Lin, C.L. and Chen, B.H., 2010, "Preparative chromatography of flavonoids and saponins in *Gynostemma pentaphyllum* and their antiproliferation effect on hepatoma cell", **Phytomedicine**, Vol. 18, pp. 2-10.

Valera, H.R., Gomesa, J., Lakshmi, S., Gururaja, R., Suryanarayan, S. and Kumarc, D., 2005, "Lovastatin production by solid state fermentation using *Aspergillus flavipes*", **Enzyme and Microbial Technology**, Vol. 37, pp. 521–526.

Varzakas, T., 1998, "*Rhizopus oligosporus* mycelial penetration and enzyme diffusion in soya bean tempe", **Process Biochemistry**, Vol. 33, pp. 741-747.

Vats, P. and Banerjee, U.C., 2002. "Studies on the dephosphorylation of phytic acid in livestock feed using phytase from *Aspergillus niger* van Teighem." **Process Biochemistry**, Vol.38, pp. 211–217.

Vats, P., and Banerjee, U.C., 2004. "Production studies and catalytic properties of phytases (myo-nositol hexakis phosphate phosphorhydrolases): an overview." **Enzyme and Microbial Technology**, Vol.35, pp.3–14.

Vats, P., and Banerjee, U.C., 2005. "Biochemical characterization of extracellular phytase (myo - inositolhexakisphpshate phosphohydrolases) from a hyperproducing strain of *Aspergillus niger* van Teighem." **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Vol.32, pp.141–147.

Vats, P., Bhushan, B. and Banerjee, U.C., 2009. "Catalytic characterization of phytase (myo - inositolhexakisphpshate phosphohydrolases) from *Aspergillus niger* van Teighem: Glycosylation pattern, kinetics and molecular properties". **Bioresource Technology**. Vol.100, pp.287–291.

Watanabe, M., Sumida, N., Yanai, K. and Murakami, T., 2005, "Cloning and characterization of saponin hydrolases from *Aspergillus oryzae* and *Eupenicillium brefeldianum*", **Bioscience Biotechnology and Biochemistry**, Vol. 69, pp. 2178-2185.

Wikimedia Foundation Incorperation, "**Phytic acid**", [Online], Available: http://en.wikipedia.org/wiki/Phytic_acid, [2009, August 19].

Wyss, M., Brugger, R., Kronenberger, A., Remy, R., Fimbel, R., Oesterhelt, O., Lehmann, M. and Van Loon, A.P.G.M., 1999. "Biochemical characterization of fungal phytases (myo-inositol hexakisphosphate-phosphohydrolases): Catalytic properties". **Applied and Environmental Microbiology**, Vol.65, pp.367–373.

ภาคผนวก ก
เทคนิคทางจุลชีววิทยา

ก.1 สูตรอาหาร PDA สำหรับเลี้ยงเชื้อรา

ส่วนประกอบ

Potato dextrose broth	26.5	กรัม
Agar	15	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

วิธีทำ นำส่วนประกอบทั้งหมดผสมกันแล้วนำไปต้มจนวุ้นละลายจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 การนับจำนวนสปอร์

ก.2.1 อุปกรณ์

ก.2.1.1 กล้องจุลทรรศน์

ก.2.1.2 Haemacytometer

ก.2.1.3 ปิเปตปลอดเชื้อ

ก.2.2 สารเคมี

ก.2.2.1 สารละลาย Tween 80 (ผสม Tween 80 ปริมาตร 0.1 ml พร้อมทั้งปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 ml จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที)

ก.2.3 วิธีวิเคราะห์

ก.2.3.1 นำเชื้อราที่เพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเอียงอายุ 7 วันมาเติมสารละลาย Tween 80 ที่เตรียมได้ 5 ml จากนั้นจึงใช้เข็มเขี่ยเชื้อขูดสปอร์ให้ออกมาอยู่ในสารละลายให้มากที่สุด (ทำในสภาวะปลอดเชื้อ)

ก.2.3.2 เช็ด Haemacytometer และ กระจกปิดให้ปราศจากฝุ่นแล้วจึงนำกระจกปิดบริเวณกึ่งกลางของ Haemacytometer

ก.2.3.3 ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดสารละลายสปอร์มาแตะปริเวณขอบกระจกปิดและปล่อยให้สารละลายสปอร์แพร่แทรกซึมระหว่างกระจกปิดทับกับ Haemacytometer จนเต็ม

ก.2.3.4 ใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า นับจำนวนสปอร์ที่อยู่ในช่องใหญ่และอยู่ระหว่างเส้นแบ่งทางด้านล่างและทางด้านขวา โดยนับตามแนวทแยงมุมขวารวม 9 ช่อง

ก.2.4 การแปลผล

ระยะห่างระหว่างกระจกปิดกับกระจกนับเม็ดเลือด	0.1	มิลลิเมตร
1 ช่องใหญ่มีพื้นที่	0.2x0.2	มิลลิเมตร
1 ช่องใหญ่มีปริมาตร	0.004	ลูกบาศก์มิลลิเมตร
0.004 ลูกบาศก์มิลลิเมตรจะเท่ากับ	4×10^{-6}	ml

เมื่อนำจำนวนสปอร์ที่นับได้มาหารเฉลี่ยด้วยจำนวนช่องที่นับ (X) จะสามารถคำนวณจำนวนสปอร์ต่อปริมาตรของสารละลายได้ดังนี้

ในสารละลาย 4×10^{-6} ml มีจำนวนสปอร์เท่ากับ	(X)	สปอร์
ในสารละลาย 1 ml มีจำนวนสปอร์เท่ากับ	$\frac{(X) \times 10^{6}}{4}$	สปอร์

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมี

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน

ข.1.1 สารละลายกลูโคซามีนมาตรฐาน

ชั่งกลูโคซามีน 0.1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 ml จะได้ความเข้มข้นของกลูโคซามีน 1,000 µg/ml นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 µg/ml เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 530 nm

ข.1.2 30%NaOH

ชั่ง NaOH 30 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 100 ml

ข.1.3 สารละลาย Ehrich reagent

ชั่ง para-dimethylaminobenzaldehyde 1.6 g เติม conc.HCl 30 ml เติม 95% ethanol 30 ml สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้งานได้ 3 วัน

ข.1.4 สาร acetyl acetone reagent

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 13.28 กรัม เติม acetyl acetone 4 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 ml ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนวิธี Kjeldahl (AOAC, 1995)

ข.2.1 สารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst)

นำ $CuSO_4$ 1 กรัมและ K_2SO_4 4 กรัม มาบดผสมกันให้เข้ากัน เก็บผงสารผสมดังกล่าวไว้ในสภาวะที่ไม่มีความชื้น

ข.2.2 มิกซ์อินดิเคเตอร์

ละลายเมธิลเรด (Methyl red) 200 ml ใน 95% เอทานอล ปริมาตร 100 mlผสมกับสารละลายของเมธิลีนบูล (Methyl blue) 100 mg ที่ละลายด้วย 95% เอทานอล ปริมาตร 50 ml

ข.2.3 40%NaOH

ชั่ง NaOH 40 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 100 ml

ข.2.4 สารละลายกรดบอริค

ละลายกรดบอริค (H_3BO_4) 4 กรัมในน้ำกลั่นและ ปรับปริมาตรเป็น 100 ml จะได้สารละลายกรดบอริคเข้มข้นร้อยละ 4

ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนวิธี Lowry (Lowry et al, 1951)

ข.3.1 สารละลาย A : สารละลาย $CuSO_4.5H_2O$ เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

ละลาย $CuSO_4.5H_2O$ 1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml

ข.3.2 สารละลาย B : สารละลาย $KNaO_6C_4H_4.4H_2O$ เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

ละลาย $KNaO_6C_4H_4.4H_2O$ 2 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 ml

ข.3.3 สารละลาย C : สารละลาย NaOH เข้มข้น 1 โมลาร์ ใน Na_2CO_3 เข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

ละลาย NaOH 4 กรัม และ Na_2CO_3 20 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml

ข.3.4 สารละลาย Copper reagent

ผสมสารละลาย A ปริมาตร 1 ml สารละลาย B ปริมาตร 1 ml และสารละลาย C ปริมาตร 48 ml

ข.3.5 สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin

ละลาย Bovine serum albumin 0.05 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin เข้มข้น 500 µg/ml เป็น Stock solution

ข.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Saponins

ข.4.1 สารละลาย A

0.5 ml p-anisaldehyde ผสมกับ 99.5 ml ethyl acetate

ข.4.2 สารละลาย B

50 ml concentrated sulfuric acid ผสมกับ 50 ml ethyl acetate

ข.4.3 สารละลายมาตรฐาน Diosgenin

ละลาย Diosgenin 0.005 กรัม ใน Methanol เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 10 ml ได้ความเข้มข้นของสารละลาย 500 µg/ml เจือจางให้มีความเข้มข้น 0-50 µg/ml

ข.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนโดยวิธี TNBS (Adler-Nissen, 1979)

ข.5.1 สารละลายลิวซีนมาตรฐาน

ชั่งลิวซีน 0.1 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 mlจะได้ความเข้มข้นลิวซีน 1,000 µg/ml นำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250 และ 300 µg/mlเพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน นำไปวัดที่ความยาวคลื่น 340 nm

ข.5.2 สารละลาย Sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v)

ละลาย Sodium dodecyl sulfate 1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

ข.5.3 สารละลาย Sodium phosphate buffer เข้มข้น 0.2125 โมลาร์ ที่ความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 8.2

ละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ 69.194 กรัม และ $NaH_2PO_4 .2H_2O$ 3.011 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

ข.5.4 สารละลาย TNBS reagent เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (Trinitrobenzene sulfonic acid) (v/v)

ผสมสารละลาย Trinitrobenzene sulfonic acid เข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร

ข.5.5 HCl เข้มข้น 0.1 โมลาร์

ผสมสารละลาย HCl 8.58 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

ข.6 การวิเคราะห์ปริมาณ phytic acid

ข.6.1 Wade's Reagent

ผสมสารละลาย 0.03%$FeCl_3.6H_2O$ กับ 0.3% Sulfosalicylic acid อัตราส่วน 1 ต่อ 1

ข.6.2 สารละลาย HCl เข้มข้น 2.4 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

ผสมสารละลาย HCl 32.4 ml ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 ml

ข.6.3 สารละลายมาตรฐาน Phytic acid

ละลาย Phytic acid 0.05 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 mlในขวดปรับปริมาตร ได้ความเข้มข้นของสารละลาย 500 µg/ml เจือจางให้มีความเข้มข้น 0-50 µg/ml

ข.7 การวิเคราะห์ปริมาณ Trypsin inhibitor (Liu และ Markakis, 1989)

ข.7.1 สารละลาย Tris buffer เข้มข้น 50 mmol ค่า pH 8.2 และมี $CaCl_2$ เข้มข้น 10 mmol ละลาย Tris-HCl 6.057 กรัม ในสารละลาย $CaCl_2$ เข้มข้น 10 mmol ($CaCl_2$ 1.47 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 ml) ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 ml ค่า pH เท่ากับ 8.2

ข.7.2 สารตั้งต้น (Substrate solution)

ละลาย Benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride (BAPNA) 40 mg ด้วย Dimethylsulfoxide ปริมาตร 1 ml จากนั้นเติม Tris buffer ความเป็นกรด-ด่างที่ 8.2 ซึ่งมีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนได้ปริมาตร 100 ml (สารนี้เตรียมไว้ใช้ต่อวัน)

ข.7.3 Trypsin solution

ละลาย Crystalline porcine trypsin 0.01 กรัม ในสารละลาย HCl เข้มข้น 1 mmol ที่มี $CaCl_2$ เข้มข้น 2.5 mmol (0.2775 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 50 ml เก็บสารละลายนี้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส

ข.8 การวิเคราะห์ปริมาณ Lectin (Gordon และ Marquardt, 1974)

ข.8.1 Phosphate buffer saline (PBS)

ละลาย NaCl 8 กรัม, KCl 0.2 กรัม, Na_2HPO_4 1.44 กรัม และ K_2HPO_4 0.24 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 7

ข.8.2 สารละลายเลือดเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (1%RCB) (v/v)

ล้างสารละลายเลือด 0.5 มิลลิลิตร ด้วย Phosphate buffer saline 50 มิลลิลิตรโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยแรงเหวี่ยง 1,050xg นาน 3 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง ล้างซ้ำ 3 ครั้ง

ข.9 การวิเคราะห์ปริมาณ Phorbol esters (Haas และ Mittelbach, 2000)

ข.9.1 Ethanol เข้มข้น 90 เปอร์เซ็นต์ (v/v)

ผสมสารละลาย Ethanol เข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 1,985 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 2,000 มิลลิลิตร

ข.9.2 สารมาตรฐาน Phorbol esters (Phorbol-12-Myristate 13-Acetate)

เติม Methanol 1 มิลลิลิตร ลงในสารมาตรฐาน Phorbol esters 5 มิลลิกรัม จะได้สารละลาย Phorbol-12-Myristate 13-Acetate 5,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น Stock solution

ข.10 การศึกษาการเจริญเติบโตของพืชด้วยตัวอย่างโปรตีนสกัด

ข.10.1 โปรตีนสกัดทางการค้า (Biolife M80)

ละลายโปรตีนสกัดทางการค้า 0.5 กรัมในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้มา 5 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 30 มิลลิตรก่อนนำไปใช้

ข.10.2 ปุ๋ยยูเรีย เข้มข้น 30 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อมิลลิลิตร

ละลายปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 65.1 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร

ภาคผนวก ค
เทคนิคทางเคมีวิเคราะห์

ค.1 การวิเคราะห์ค่า pH (AOAC, 1995)

นำตัวอย่างกากเมล็ดสบู่ดำ 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 ml ตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง วัดค่าด้วยเครื่อง pH meter

ค.2 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1995)

นำตัวอย่างกากเมล็ดสบู่ดำอย่างน้อย 10 กรัม ในถ้วย crucible หรือ moisture can ที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้วทราบน้ำหนักที่แน่นอน อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 ± 2°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนัก อบซ้ำจนได้น้ำหนักคงที่ (ไม่ต่างกันเกิน 1 mg)

$$\% \text{ ความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$$

ค.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไนโตรเจน (Kjedahl method; AOAC, 1995)

ค.3.1 *การย่อย* :ชั่งตัวอย่างประมาณ 0.5 – 1.0 กรัม ใส่ลงใน Kjedahl digestion flask ขนาด 250 ml เติม catalyst 5 กรัม และ glass bead 5 เม็ด เติม conc. H_2SO_4 25 ml ในตู้ดูดควัน นำไปย่อยในเตาย่อยโดยใช้อุณหภูมิ 200°C ย่อยจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียวใส

ค.3.2 *การกลั่น* : เมื่อสารละลายที่ย่อยได้เย็นลง ใส่ลงใน microkjedahl tube เติมน้ำกลั่น 150 ml และ 40 % NaOH 50 ml วาง flask ที่เติม 2% boric acid 25 ml และ mixed indicator 2-3 หยด ตรงส่วนรองรับสารละลายที่กลั่นได้ จนได้ปริมาตรรวม 50 ml

ค.3.3 *การไทเทรต*: นำสารละลายที่กลั่นได้ ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1N HCl จนกระทั่งได้สีชมพูของ methyl red ทำ Blank

ค.3.4 *การคำนวณ*: จากปฏิกิริยาสมมูล 1 mL 0.1N HCl สมมูลกับ 0.014 g ไนโตรเจน

$$\% \text{ Total Nitrogen} = \frac{\text{Titer (sample} - \text{blank)} \times \text{normality HCl} \times 0.014 \times 100}{\text{Weight of sample}}$$

$$\% \text{ Protein} = \% \text{ Total Nitrogen} \times 6.25$$

ค.4 การวิเคราะห์ปริมาณ soluble protein (Lowry, 1951)

Lowry method หรือ Folin's Ciocalteau method ทำโดย pretreatment โปรตีนด้วย alkaline copper reagent โดยพันธะเปปไทด์ของโปรตีนจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย $CuSO_4$ ในสารละลายด่างได้ coordination complex จากนั้น Folin's reagent (phosphomolybdic-phosphotungstic acid) เข้าทำปฏิกิริยาเกิดเป็น complex ของ phosphotungstic acid และ phosphomolybdic กับ aromatic group ในโปรตีน และโปรตีนจะได้สีน้ำเงินเนื่องจาก Folin's Ciocalteau reagent ถูกรีดิวซ์โดยหมู่ฟีนอลิก (phenolic group) ของกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) และทริปโตเฟน (tryptophan) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร การวิเคราะห์ มีขั้นตอนดังนี้ คือ

ค.4.1 นำตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการหมักกากเมล็ดสบู่ดำที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสม ปริมาตร 1 mlใส่ในหลอดทดลอง

ค.4.2 เติมสารละลาย copper reagent ปริมาตร 2 ml ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที และเติมสารละลาย folin-ciocalteau ปริมาตร 0.2 ml ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณโปรตีนในสารละลายโปรตีนสกัด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน bovine serum albumin

ค.4.3 การทำกราฟมาตรฐาน bovine serum albumin โดยละลาย bovine serum albumin 0.050 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 ml ด้วยขวดปรับปริมาตรขนาด 100 ml จะได้สารละลายมาตรฐาน bovine serum albumin เข้มข้น 500 µg/ml และปรับให้มีความเข้มข้น 0 100 200 300 400 และ 500 µg/mlด้วยน้ำกลั่น หลังจากนั้นทำการทดลองเหมือนกับตัวอย่างตามข้อ ค.4.2 และสร้างกราฟมาตรฐาน bovine serum albumin

ค.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet extraction (AOAC, 1995)

ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม (บันทึกน้ำหนักเป็น W_1) ลงใน soxhlet thimble ใส่เข้ากับชุดแยกสกัดไขมันของเครื่องสกัดไขมัน เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 200 ml ลงใน soxhlet flask ที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน (บันทึกน้ำหนักเป็น W_2) วางตรงตำแหน่งสำหรับวาง flask ของเครื่องสกัดไขมัน จากนั้นจึงเปิดเครื่องสกัดไขมัน โดยตั้งอุณหภูมิเท่ากับ 60°C เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง จากนั้นนำส่วน flask ไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ในตู้ดูดควัน อบ flask ที่อุณหภูมิ 105 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนักคงที่ (บันทึกน้ำหนักเป็น W_3) คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\% \text{ ไขมัน} = \frac{W_3 - W_2}{W_1} \times 100$$

ค.6 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (Fiber) (AOAC, 1995)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างกากเมล็ดสบู่ดำประมาณ 1 กรัม (บันทึกน้ำหนักเป็น W_0) ย่อยด้วยการเติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 1.25 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 200 มิลลิตร โดยการต้มเดือดเป็นเวลา 30 นาทีในตู้ดูดควัน กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง ย่อยด้วยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.25 เปอร์เซนต์ ปริมาตร 200 มิลลิตร โดยการต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที กรองตัวอย่างอีกครั้ง และล้างตะกอนที่ได้ด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง นำไปอบแห้งที่ 130 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนัก (บันทึกน้ำหนักเป็น W_1) นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีเทาอ่อนหรือประมาณ 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักคงที่ (บันทึกน้ำหนักเป็น W2)

$$\% \text{ crude fiber} = \frac{W_1 - W_2}{W_0} \times 100$$

ค.7 การหาปริมาณเถ้า (Ash) (AOAC, 2000)

เผาครูซิเบิลที่อุณหภูมิ 550°C ในเตาเผาประมาณ 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง นำครูซิเบิลที่เผาแล้วไปชั่งน้ำหนัก ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัมใส่ครูซิเบิลที่ผ่านการเผาและชั่งน้ำหนักแล้ว หลังจากนั้นนำไปเผาด้วยไฟอ่อน ๆ ด้วยตะเกียงหรือเตาไฟฟ้า (ทำในตู้ดูดควัน) จนหมดควัน แล้วนำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 550°C ประมาณ 3 ชั่วโมง จนได้เถ้าสีขาวหรือสีเทา ทิ้งไว้ให้ได้อุณหภูมิ 100°C ในเตาเผา หลังจากนั้นนำไปทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก

$$\text{การคำนวณปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{W_1 - W_2}{W_1 - W} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักครูซิเบิล

W_1 = น้ำหนักครูซิเบิลและน้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

W_2 = น้ำหนักครูซิเบิลและน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา

ค.8 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนโดยวิธี modified Morgan-Elson (Loo, 1976)

ชั่งตัวอย่างแห้ง 0.5 กรัมใส่หลอดทดลอง เติมกรดเกลือเข้มข้น (conc. HCl) ปริมาตร 10 ml ทิ้งไว้มากกว่า 20 ชั่วโมง กรองส่วนของเหลว 2 ml ใส่หลอดใหม่ เติมน้ำ 1 ml นำไปต้มในน้ำเดือด 2 ชั่วโมง ทำตัวอย่างให้เย็นลงทันที ปรับ pH ให้เป็นกลางด้วย 30% NaOH ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 50 ml กรองครั้งที่ 2 นำส่วนที่ผ่านการกรอง 1 ml เติม acetyl acetone reagent 1 ml นำไปต้มอีกครั้งในน้ำเดือด 20 นาที ทำให้เย็นลงทันที เติม 95% ethanol 10 ml และ Ehrich reagent 1 ml ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 530 nm คำนวณค่าปริมาณกลูโคซามีนที่มีในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐาน

ค.9 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน โดยวิธี TNBS (Adler-Nissen, 1979)

วิธี TNBS เป็นวิธีที่ใช้ติดตามการย่อยสลายโปรตีนด้วยการที่ TNBS reagent ทำปฏิกิริยากับ α-amino acid และเกิดสารสีที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 340 นาโนเมตร เพื่อวิเคราะห์ปริมาณพันธะเปปไทด์ที่ถูกย่อย มีขั้นตอนดังนี้ คือ

ค.9.1 ละลายตัวอย่างโปรตีนสกัดในสารละลาย 1% SDS และเติมลงในหลอด 0.25 ml

ค.9.2 เติม 0.2125 M Sodium phosphate buffer ที่ความเป็นกรด-ด่าง 8.2 ปริมาณ 2 ml จากนั้นเติม TNBS reagent ปริมาณ 2 ml และผสมให้เข้ากัน

ค.9.3 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที (ทำปฏิกิริยาในที่มืด) และหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม 0.1 N HCl ปริมาณ 4 ml

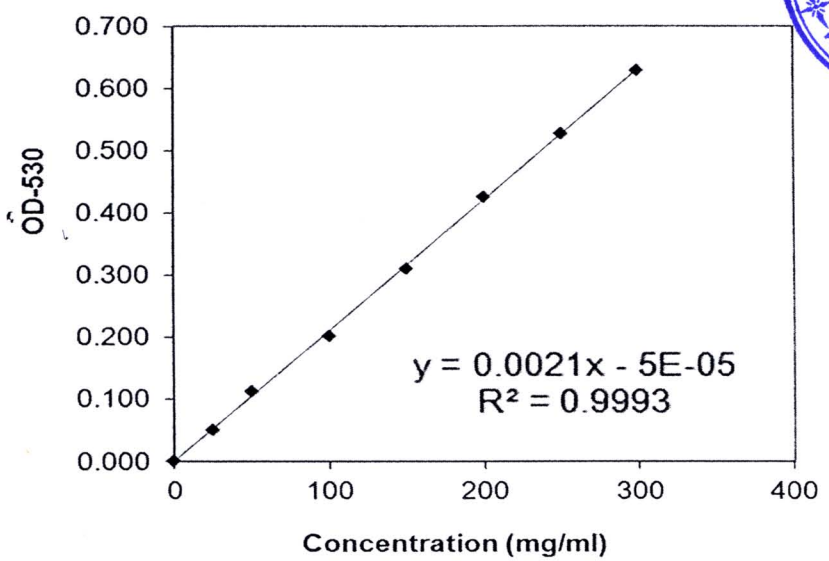
ค.9.4 ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณกรดอะมิโนอิสระโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนลิวซีน

ภาคผนวก ง

ข้อมูลดิบผลการทดลอง

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

ง.1 การเจริญเติบโตของเชื้อราในกากเมล็ดสบู่ดำ



รูปที่ ง.1 กราฟมาตรฐานของกลูโคซามีน

ตารางที่ ง.1 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.54	7.49	0.04	0.542	0.004	3.736	6.05	2.44
	2	7.48			0.521	0.006	5.806		
	3	7.46			0.526	0.009	8.603		
Control Day7	1	7.24	7.18	0.06	0.528	0.004	3.835	4.52	2.00
	2	7.18			0.518	0.003	2.944		
	3	7.12			0.521	0.007	6.766		
Fermented Day 7	1	6.91	6.91	0.02	0.522	0.151	144.684	162.36	15.43
	2	6.93			0.546	0.189	173.123		
	3	6.89			0.523	0.177	169.264		

ตารางที่ ง.2 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.56	7.59	0.03	0.549	0.004	3.689	4.74	1.80
	2	7.59			0.517	0.007	6.818		
	3	7.61			0.546	0.004	3.709		
Control Day7	1	6.95	6.97	0.02	0.549	0.005	4.599	4.97	1.39
	2	6.97			0.542	0.007	6.504		
	3	6.98			0.532	0.004	3.806		
Fermented Day 7	1	6.55	6.47	0.14	0.536	0.126	117.584	123.59	8.40
	2	6.56			0.521	0.125	120.010		
	3	6.31			0.522	0.139	133.190		

ตารางที่ ง.3 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.43	7.41	0.02	0.523	0.002	1.960	2.91	0.94
	2	7.41			0.528	0.004	3.835		
	3	7.39			0.519	0.003	2.938		
Control Day7	1	7.29	7.30	0.02	0.531	0.005	4.755	6.08	1.52
	2	7.32			0.520	0.008	7.740		
	3	7.30			0.527	0.006	5.740		
Fermented Day 7	1	8.43	8.47	0.04	0.531	0.181	170.480	177.30	6.24
	2	8.47			0.529	0.189	178.686		
	3	8.51			0.531	0.194	182.721		

ตารางที่ ง.4 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.28	7.32	0.04	0.535	0.003	2.850	5.13	2.01
	2	7.32			0.511	0.006	5.920		
	3	7.35			0.532	0.007	6.626		
Control Day7	1	7.44	7.40	0.04	0.551	0.004	3.675	4.93	1.43
	2	7.37			0.543	0.007	6.492		
	3	7.40			0.547	0.005	4.616		
Fermented Day 7	1	7.86	7.90	0.05	0.529	0.131	123.866	124.84	3.91
	2	7.95			0.519	0.134	129.143		
	3	7.89			0.531	0.129	121.516		

ตารางที่ ง.5 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.42	7.45	0.04	0.52	0.003	2.933	2.62	1.46
	2	7.45			0.51	0.001	1.029		
	3	7.49			0.52	0.004	3.894		
Control Day7	1	7.26	7.26	0.01	0.52	0.003	2.933	4.28	1.52
	2	7.26			0.51	0.004	3.971		
	3	7.25			0.51	0.006	5.931		
Fermented Day 7	1	8.47	8.49	0.02	0.53	0.136	128.349	132.88	3.95
	2	8.48			0.52	0.141	135.625		
	3	8.51			0.52	0.140	134.663		

ตารางที่ ง.6 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.35	7.32	0.03	0.51	0.004	3.971	3.95	2.00
	2	7.31			0.51	0.006	5.931		
	3	7.29			0.53	0.002	1.934		
Control Day7	1	7.29	7.29	0.01	0.52	0.008	7.740	6.82	0.91
	2	7.29			0.51	0.006	5.931		
	3	7.30			0.52	0.007	6.779		
Fermented Day 7	1	8.28	8.38	0.09	0.52	0.127	122.163	120.49	3.28
	2	8.39			0.51	0.119	116.716		
	3	8.46			0.51	0.125	122.598		

ตารางที่ ง.7 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

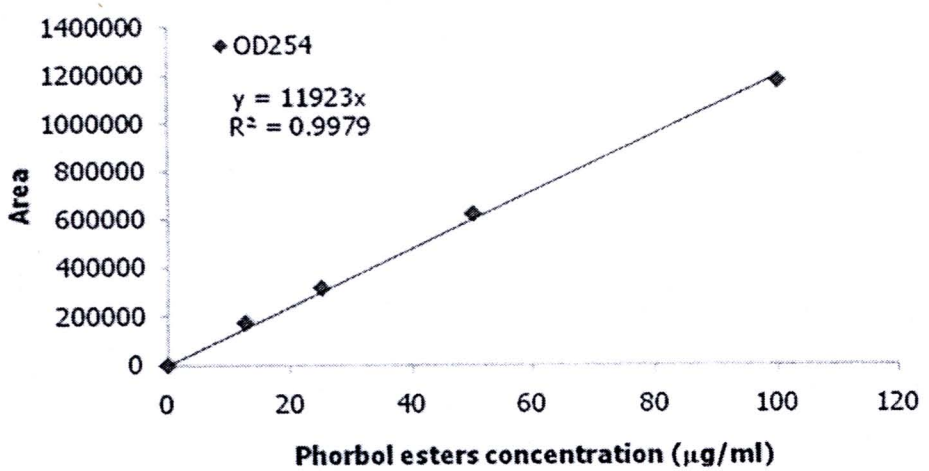
Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	7.20	7.21	0.05	0.53	0.001	0.991	1.64	1.12
	2	7.26			0.52	0.001	1.010		
	3	7.17			0.52	0.003	2.933		
Control Day7	1	7.14	7.11	0.03	0.53	0.004	3.821	3.20	1.07
	2	7.09			0.53	0.004	3.821		
	3	7.11			0.52	0.002	1.971		
Fermented Day 7	1	8.21	8.28	0.06	0.53	0.111	104.764	108.67	3.89
	2	8.31			0.52	0.117	112.548		
	3	8.31			0.52	0.113	108.702		

ตารางที่ ง.8 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	pH	mean	SD	gDM	OD-530	glucosamine	mean	SD
Control Day 0	1	6.94	6.96	0.02	0.52	0.002	1.971	2.31	0.59
	2	6.98			0.51	0.003	2.990		
	3	6.97			0.52	0.002	1.971		
Control Day7	1	7.32	7.29	0.03	0.52	0.003	2.933	3.27	1.45
	2	7.26			0.51	0.002	2.010		
	3	7.28			0.52	0.005	4.856		
Fermented Day 7	1	7.70	7.76	0.06	0.53	0.107	100.991	103.96	2.96
	2	7.81			0.51	0.109	106.912		
	3	7.76			0.51	0.106	103.971		

ง.2 การลดสารพิษและสารต้านคุณค่าทางโภชนาการในกากเมล็ดสบู่ดำ

ง.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณ Phorbol esters



รูปที่ ง.2 กราฟมาตรฐานของ Phorbol-12-Myristate-13-Acetate

ตารางที่ ง.9 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (µg/gSC)
Control Day 0	1	15.546-18.677	75410	6.324750482
	2	15.559-18.649	78219	6.560345551
	3	15.583-18.628	97413	*
	Mean			6.442548016
	S.D.			0.16659087
Control Day7	1	15.595-17.849	49771	*
	2	15.697-19.605	142010	11.91059297
	3	15.775-20.229	192421	16.1386396
	Mean			14.02461629
	S.D.			2.989680445
Fermented Day 7	1	15.512-18.061	31737	*
	2	15.614-19.882	147452	12.36702172
	3	15.729-20.061	203400	17.0594649
	Mean			14.71324331
	S.D.			3.318058391

ตารางที่ ง.10 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (µg/gSC)
Control Day 0	1	15.493-19.738	73934	*
	2	15.526-19.829	117083	9.82
	3	15.580-19.863	123977	10.40
	Mean			10.11
	S.D.			0.41
Control Day7	1	14.936-18.876	101266	8.49
	2	14.850-18.757	110200	9.24
	3	14.830-18.727	151659	*
	Mean			8.87
	S.D.			0.53
Fermented Day 7	1	14.840-18.679	122647	10.29
	2	14.821-18.665	205096	17.20
	3	14.772-18.609	176269	14.78
	Mean			14.09
	S.D.			3.51

ตารางที่ ง.11 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.459-23.266	107279	9.00
	2	15.651-17.218	111589	9.36
	3			
	Mean			9.18
	S.D.			0.26
Control Day7	1	15.646-18.797	59801	5.02
	2	15.599-17.834	54642	4.58
	3			
	Mean			4.80
	S.D.			0.31
Fermented Day 7	1	15.569-17.807	39953	3.35
	2	15.603-17.838	39876	3.34
	3			
	Mean			3.35
	S.D.			0.00

ตารางที่ ง.12 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.685-19.977	170146	14.27
	2	15.690-19.983	263347	*
	3	15.696-19.952	170228	14.28
	Mean			14.27
	S.D.			0.00
Control Day7	1	15.596-18.684	61344	5.15
	2	15.618-18.694	71618	6.01
	3	15.653-18.698	75523	6.33
	Mean			5.83
	S.D.			0.61
Fermented Day 7	1	15.639-18.640	76908	6.45
	2	15.623-19.915	71788	6.02
	3	15.747-20.090	75776	6.36
	Mean			6.28
	S.D.			0.23

ตารางที่ ง.13 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.250-17.425	53421	4.48
	2	15.784-17.830	56826	4.77
	3	15.743-20.088	66803	5.60
	Mean			4.95
	S.D.			0.58
Control Day7	1	15.792-17.885	37935	3.18
	2	15.588-17.643	36382	3.05
	3	15.561-17.584	46194	3.87
	Mean			3.37
	S.D.			0.44
Fermented Day 7	1	15.640-21.805	89198	7.48
	2	15.609-19.867	73015	6.12
	3	15.513-17.538	55377	
	Mean			6.80
	S.D.			0.96

ตารางที่ ง.14 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

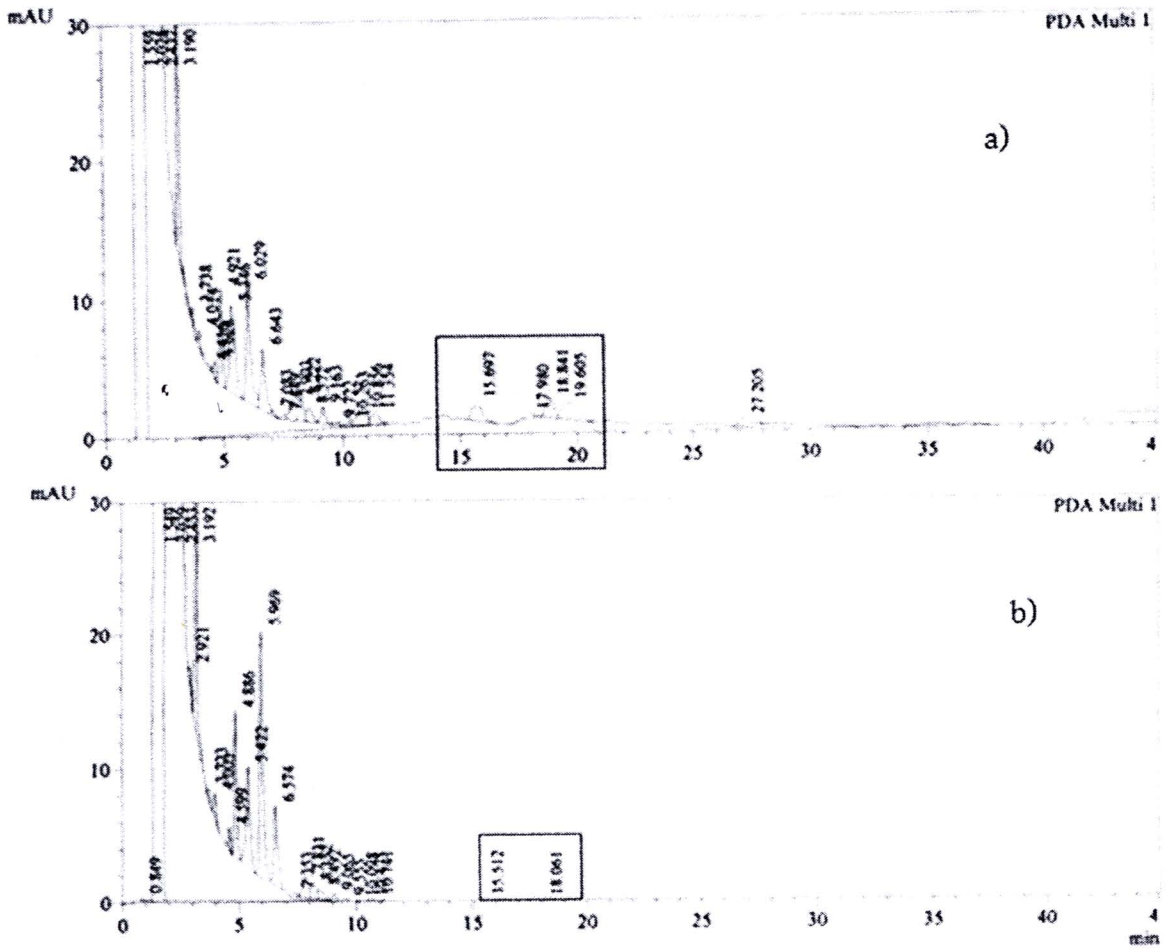
Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.873-18.204	44788	3.76
	2	15.792-18.043	52178	4.38
	3	15.907-18.217	64381	5.40
	Mean			4.51
	S.D.			0.83
Control Day7	1	15.736-17.978	58799	4.93
	2	15.594-17.787	50209	4.21
	3	15.540-17.668	54222	4.55
	Mean			4.56
	S.D.			0.36
Fermented Day 7	1	15.507-19.757	91750	7.70
	2	15.534-19.769	91630	7.69
	3	15.544-19.768	83722	7.02
	Mean			7.47
	S.D.			0.39

ตารางที่ ง.15 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

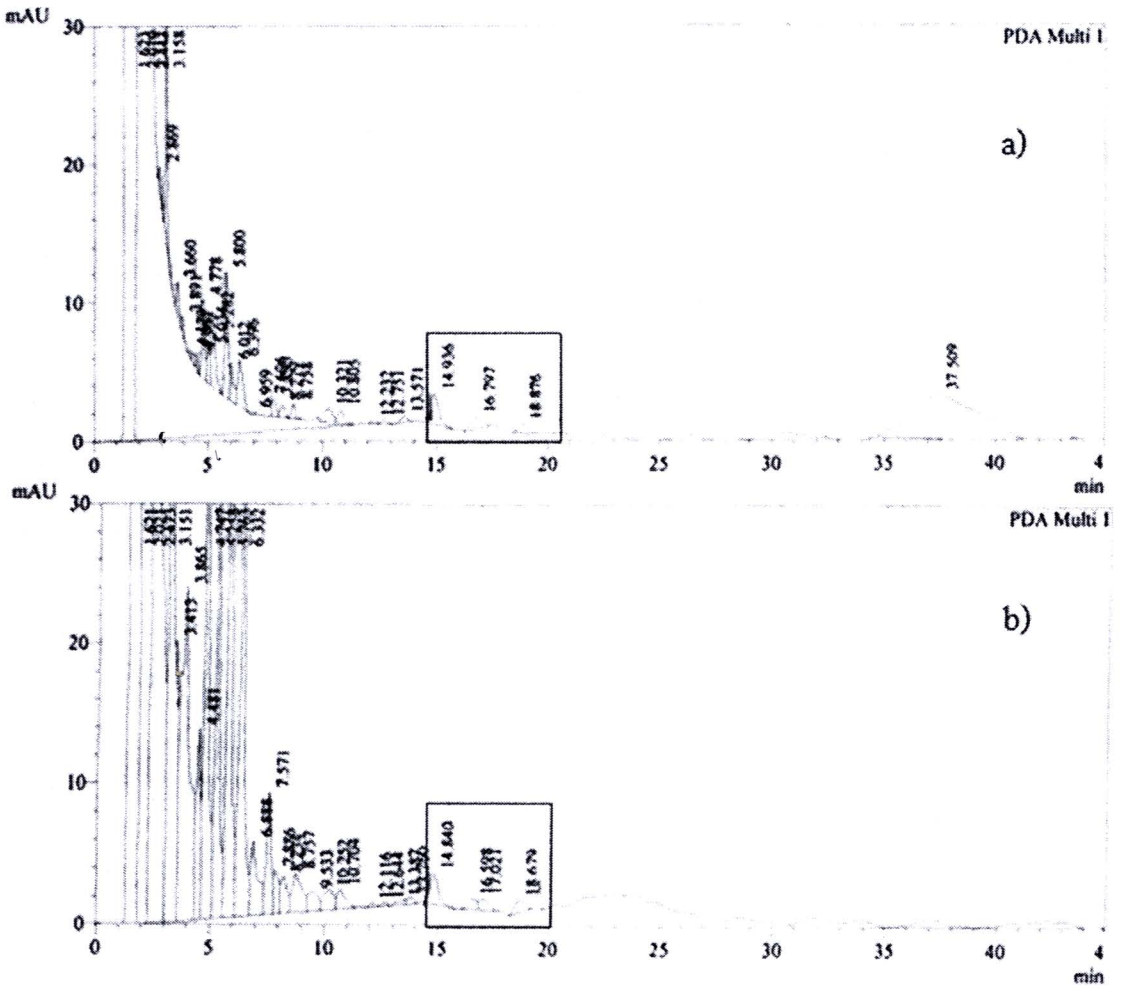
Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.206 - 19.227	135807	11.39
	2	15.120 - 19.143	65274	5.47
	3	15.062 - 19.118	73691	6.18
	Mean			7.68
	S.D.			3.23
Control Day7	1	15.075 - 19.128	64879	5.44
	2	15.028 - 16.714	38049	3.19
	3	15.056 - 17.572	61820	5.18
	Mean			4.61
	S.D.			1.23
Fermented Day 7	1	15.060 -17.584	23716	1.99
	2	14.775 - 17.124	28454	2.39
	3	15.404 - 18.086	54007	4.53
	Mean			2.97
	S.D.			1.37

ตารางที่ ง.16 ปริมาณ phorbol esters หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

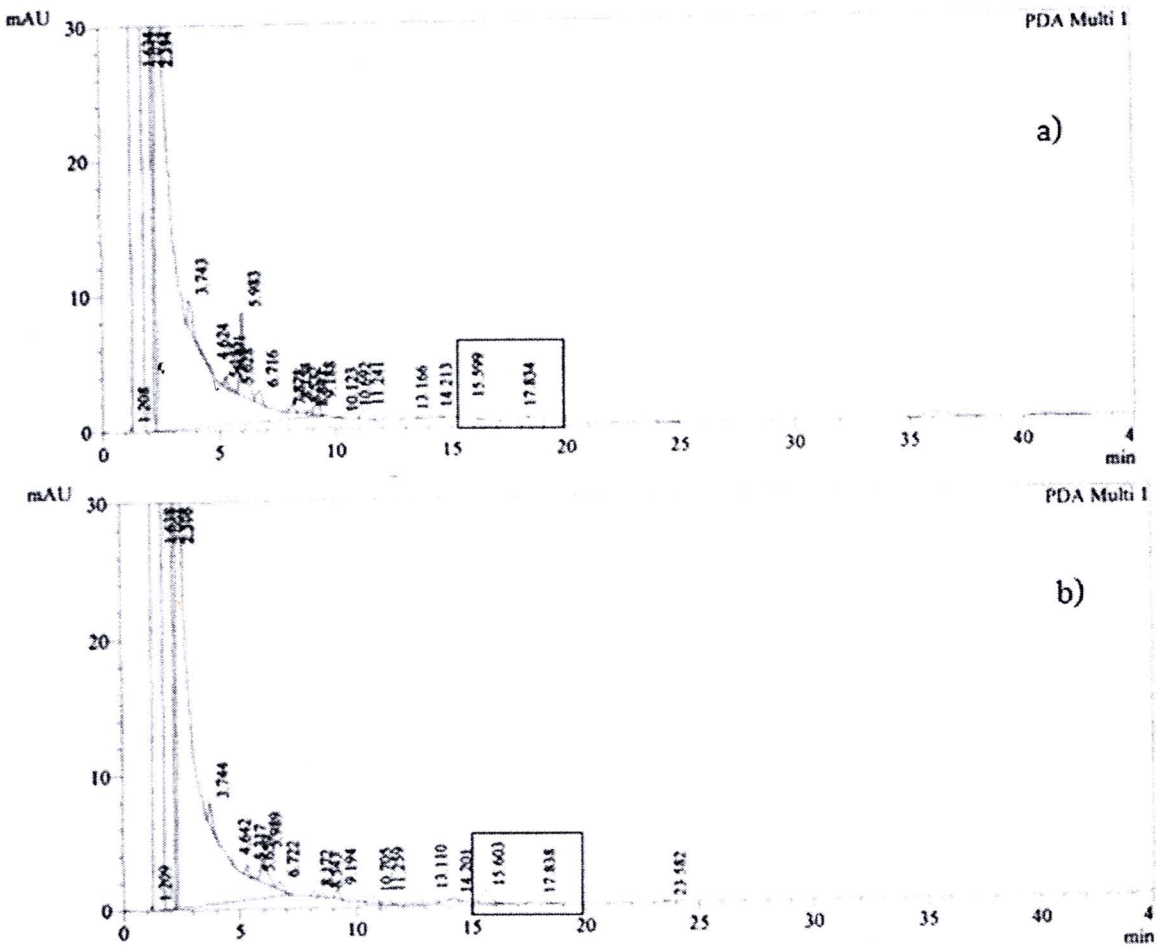
Sample	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (μg/gSC)
Control Day 0	1	15.535 -19.682	75714	6.35
	2	14.955 - 19.031	66799	5.60
	3	15.021 - 19.058	76018	6.38
	Mean			6.11
	S.D.			0.44
Control Day7	1	14.969 - 17.559	85655	7.18
	2	15.003 - 18.982	70774	5.94
	3	14.954 - 18.934	70118	5.88
	Mean			6.33
	S.D.			0.74
Fermented Day 7	1	14.875 - 18.779	90488	7.59
	2	14.848 - 18.769	91630	7.69
	3	14.784 - 18.703	90899	7.62
	Mean			7.63
	S.D.			0.05



รูปที่ ง.3 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

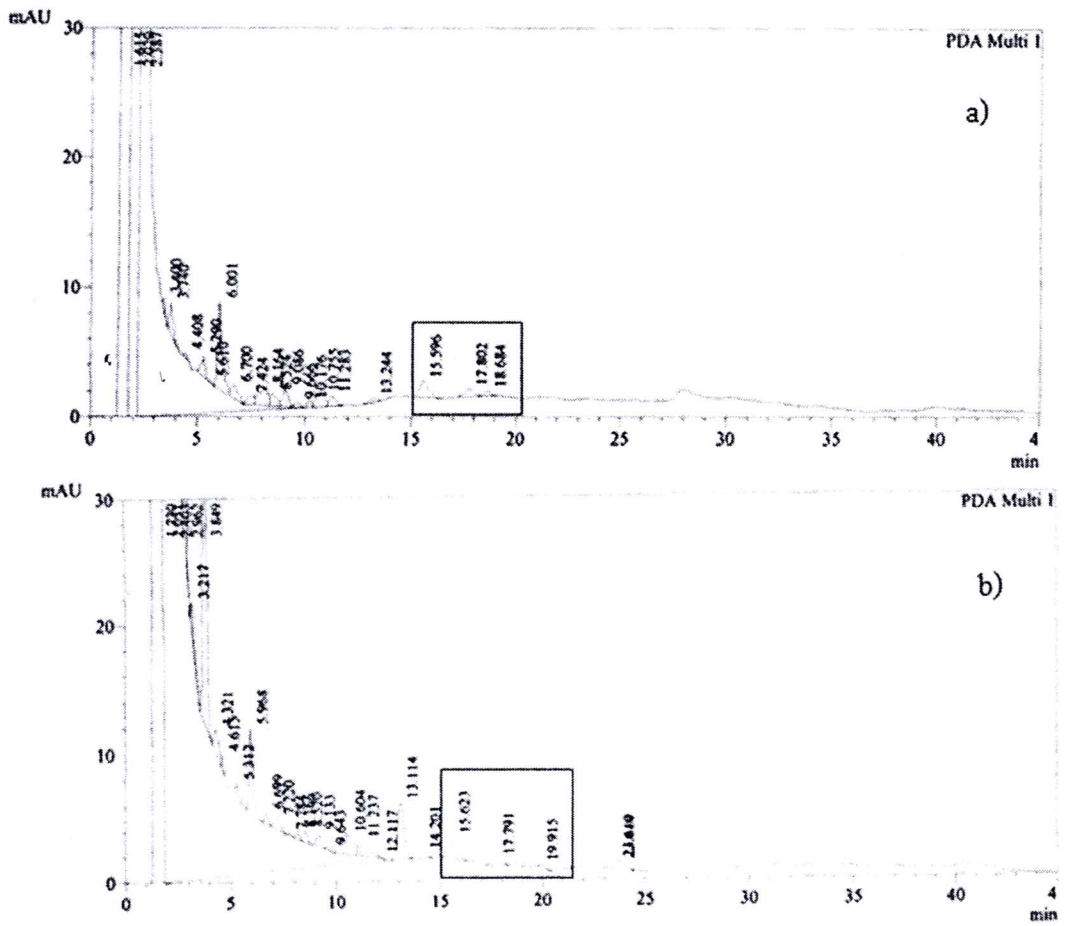


รูปที่ ง.4 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

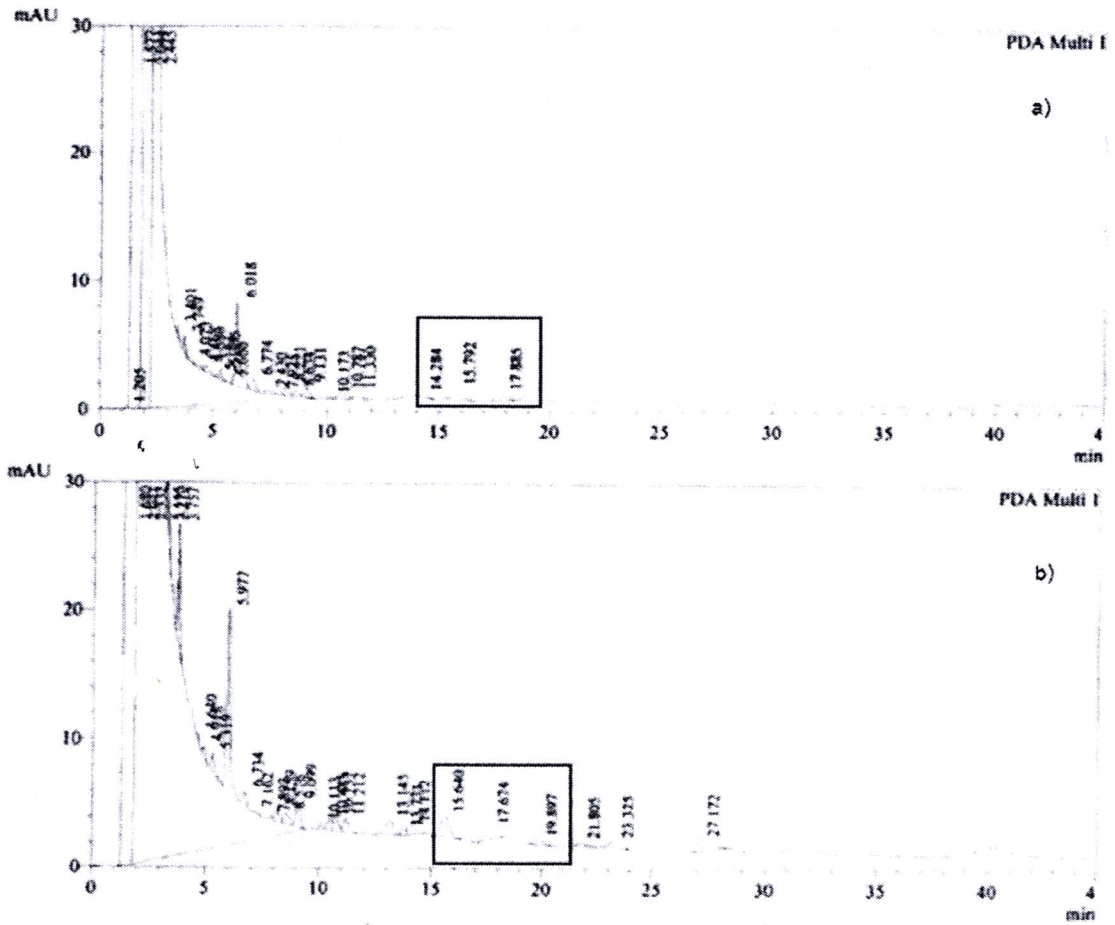


รูปที่ ง.5 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

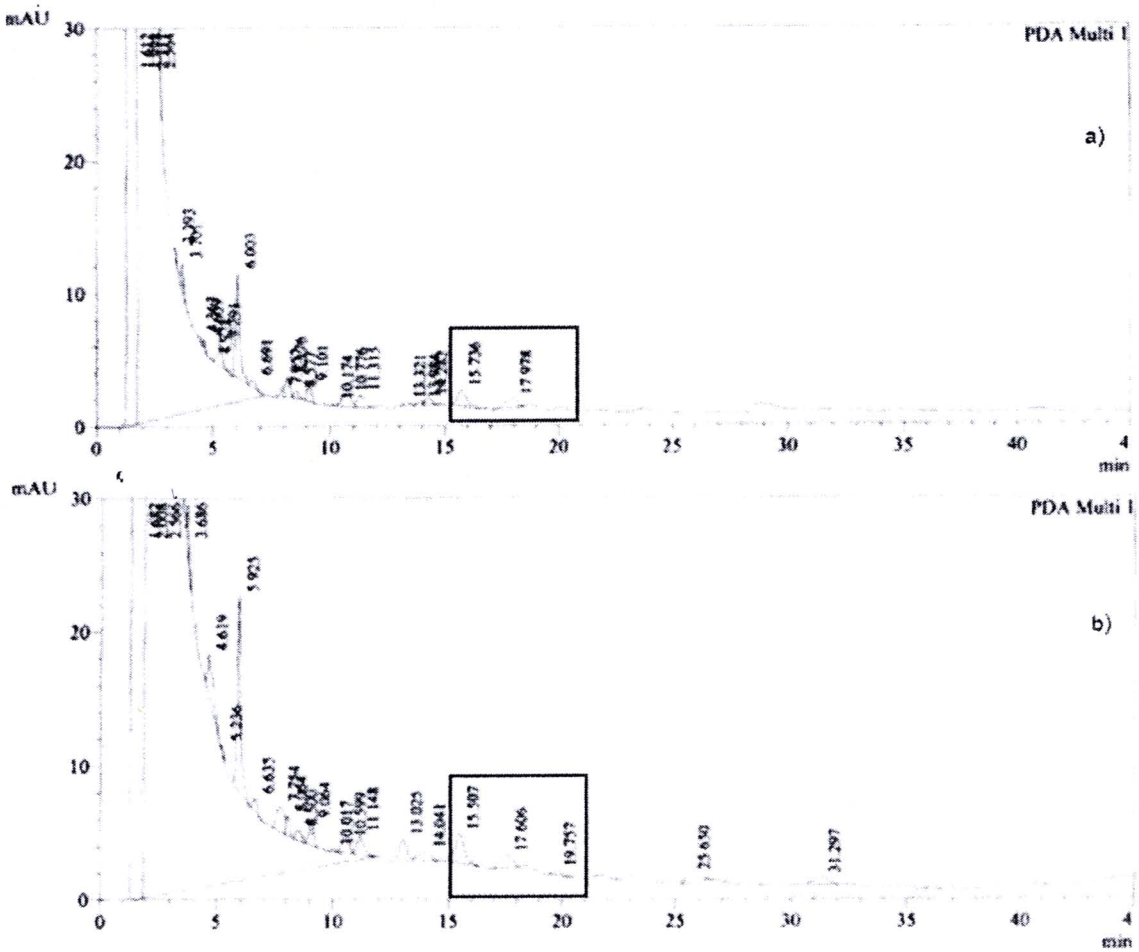
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



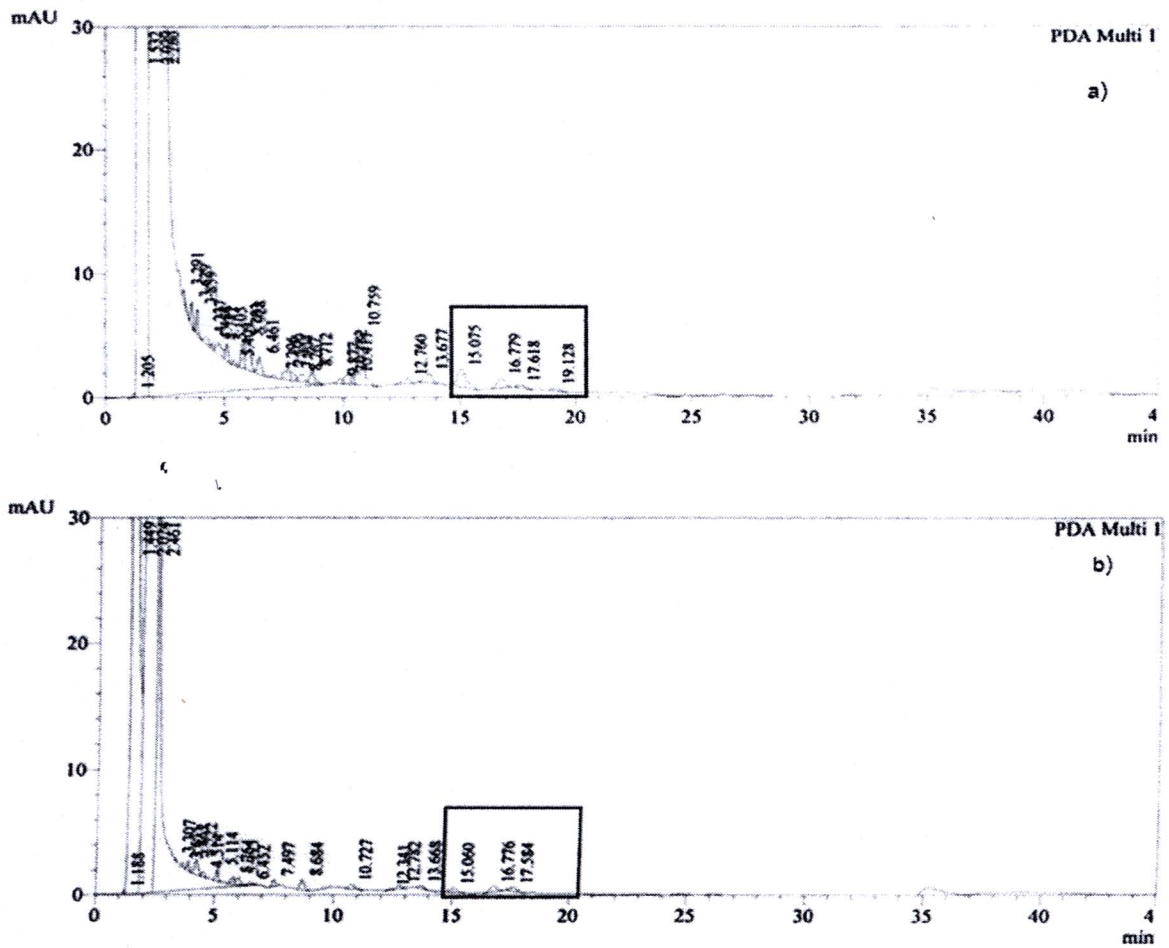
รูปที่ ง.6 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7



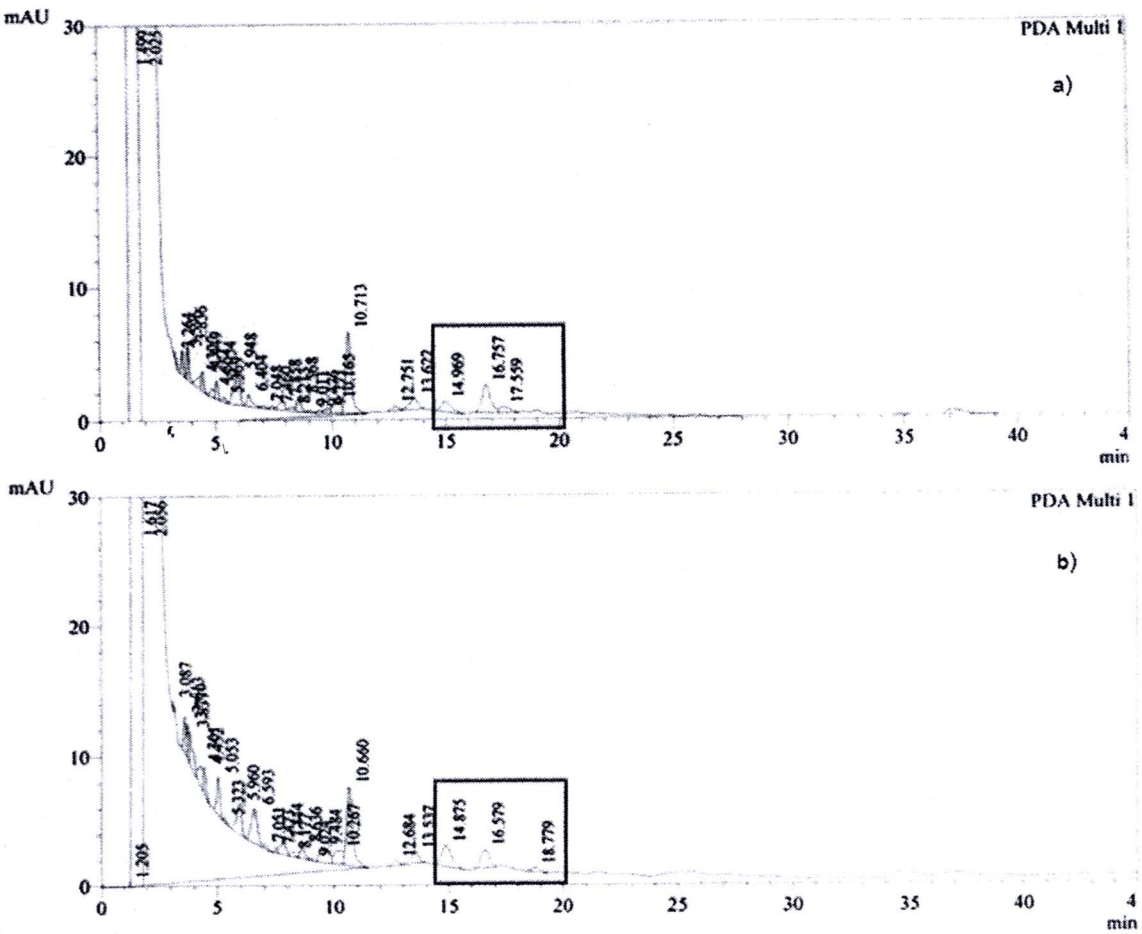
รูปที่ ง.7 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7



รูปที่ ง.8 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

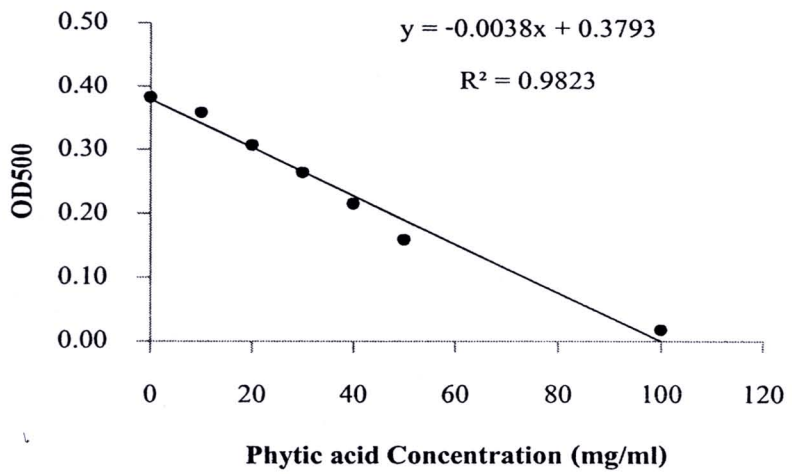


รูปที่ ง.9 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7



รูปที่ ง.10 ลักษณะพีคที่ปรากฏของกลุ่มสาร phorbol ester เมื่อ a) control และ b) กากเมล็ดสบู่ดำหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

ง.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Phytic acid



รูปที่ ง.11 กราฟมาตรฐานของ Phytic acid

ตารางที่ ง.17 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.038	898.16	17.96	17.38	0.87
	2	10	0.068	819.21	16.38		
	3	10	0.041	890.26	17.81		
Control Day7	1	10	0.077	795.53	15.91	16.26	0.37
	2	10	0.071	811.32	16.23		
	3	10	0.063	832.37	16.65		
Fermented Day 7	1	10	0.235	379.74	7.59	7.51	0.11
	2	10	0.239	369.21	7.38		
	3	10	0.236	377.11	7.54		

ตารางที่ ง.18 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.021	942.89	18.86	18.95	0.08
	2	10	0.018	950.79	19.02		
	3	10	0.019	948.16	18.96		
Control Day7	1	10	0.093	753.42	15.07	14.93	0.13
	2	10	0.096	745.53	14.91		
	3	10	0.098	740.26	14.81		
Fermented Day 7	1	10	0.253	332.37	6.65	6.65	0.11
	2	10	0.251	337.63	6.75		
	3	10	0.255	327.11	6.54		

ตารางที่ ง.19 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.227	400.79	8.02	8.37	0.34
	2	10	0.214	435.00	8.70		
	3	10	0.220	419.21	8.38		
Control Day7	1	10	0.192	492.89	9.86	9.70	0.16
	2	10	0.198	477.11	9.54		
	3	10	0.195	485.00	9.70		
Fermented Day 7	1	10	0.086	771.84	15.44	15.66	0.21
	2	10	0.078	792.89	15.86		
	3	10	0.081	785.00	15.70		

ตารางที่ ง.20 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.240	476.67	9.53	10.00	0.64
	2	10	0.237	486.67	9.73		
	3	10	0.222	536.67	10.73		
Control Day7	1	10	0.212	570.00	11.40	11.49	0.87
	2	10	0.197	620.00	12.40		
	3	10	0.223	533.33	10.67		
Fermented Day 7	1	10	0.035	1160.00	23.20	22.96	0.23
	2	10	0.042	1136.67	22.73		
	3	10	0.039	1146.67	22.93		

ตารางที่ ง.21 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.079	1013.33	20.27	20.36	0.21
	2	10	0.074	1030.00	20.60		
	3	10	0.080	1010.00	20.20		
Control Day7	1	10	0.064	1063.33	21.27	21.27	0.40
	2	10	0.070	1043.33	20.87		
	3	10	0.058	1083.33	21.67		
Fermented Day 7	1	10	0.064	1063.33	21.27	21.58	0.30
	2	10	0.055	1093.33	21.87		
	3	10	0.059	1080.00	21.60		

ตารางที่ ง.22 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.099	946.67	18.93	19.13	0.59
	2	10	0.086	990.00	19.80		
	3	10	0.103	933.33	18.67		
Control Day7	1	10	0.107	920.00	18.40	18.51	0.44
	2	10	0.111	906.67	18.13		
	3	10	0.098	950.00	19.00		
Fermented Day 7	1	10	0.161	740.00	14.80	15.04	0.48
	2	10	0.162	736.67	14.73		
	3	10	0.149	780.00	15.60		

ตารางที่ ง.23 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.054	856.05	17.12	17.21	0.45
	2	10	0.043	885.00	17.70		
	3	10	0.060	840.26	16.81		
Control Day7	1	10	0.077	795.53	15.91	16.12	0.41
	2	10	0.078	792.89	15.86		
	3	10	0.064	829.74	16.59		
Fermented Day 7	1	10	0.090	761.32	15.23	15.19	0.42
	2	10	0.083	779.74	15.59		
	3	10	0.099	737.63	14.75		

ตารางที่ ง.24 ปริมาณ phytic acid หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	dilution factor	OD-500	phytic acid content (ug/ml)	phytic acid content (mg/g)	mean	SD
Control Day 0	1	10	0.084	777.11	15.54	15.61	0.17
	2	10	0.085	774.47	15.49		
	3	10	0.079	790.26	15.81		
Control Day7	1	10	0.099	737.63	14.75	14.91	0.47
	2	10	0.103	727.11	14.54		
	3	10	0.086	771.84	15.44		
Fermented Day 7	1	10	0.188	503.42	10.07	10.23	0.42
	2	10	0.176	535.00	10.70		
	3	10	0.191	495.53	9.91		

ง.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณ Trypsin inhibitor

ตารางที่ ง.25 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.008	1.023	0.281	1.199	4.85	31.97	23.49
	2			0.282	1.184	45.10		
	3			0.267	1.186	45.95		
Control Day7	1	0.008	1.023	0.135	0.997	7.65	30.17	19.51
	2			0.157	0.973	40.80		
	3			0.141	0.982	42.05		
Fermented Day 7	1	0.008	1.023	0.109	1.093	1.55	33.50	27.67
	2			0.111	1.097	49.30		
	3			0.102	1.095	49.65		

ตารางที่ ง.26 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.006	1.024	0.297	1.154	8.05	7.33	0.70
	2			0.293	1.178	6.65		
	3			0.289	1.161	7.30		
Control Day7	1	0.006	1.024	0.303	1.114	10.35	9.72	0.58
	2			0.307	1.141	9.20		
	3			0.301	1.127	9.60		
Fermented Day 7	1	0.006	1.024	0.366	1.228	7.80	6.95	0.88
	2			0.347	1.225	7.00		
	3			0.332	1.229	6.05		

ตารางที่ ง.27 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.016	0.938	0.241	0.964	9.95	9.83	0.68
	2			0.231	0.971	9.10		
	3			0.256	0.969	10.45		
Control Day7	1	0.016	0.938	0.187	0.911	9.90	9.57	0.29
	2			0.183	0.918	9.35		
	3			0.190	0.923	9.45		
Fermented Day 7	1	0.016	0.938	0.196	0.939	8.95	7.90	1.65
	2			0.167	0.914	8.75		
	3			0.189	0.991	6.00		

ตารางที่ ง.28 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.009	0.978	0.313	1.154	6.40	6.42	0.18
	2			0.321	1.158	6.60		
	3			0.317	1.161	6.25		
Control Day7	1	0.009	0.978	0.369	1.181	7.85	8.58	0.70
	2			0.384	1.168	9.25		
	3			0.381	1.177	8.65		
Fermented Day 7	1	0.009	0.978	0.414	1.301	4.10	4.05	0.53
	2			0.409	1.308	3.50		
	3			0.421	1.299	4.55		

ตารางที่ ง.29 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.020	0.973	0.294	1.030	10.85	10.97	0.20
	2			0.301	1.030	11.20		
	3			0.292	1.028	10.85		
Control Day7	1	0.020	0.973	0.284	1.043	9.70	9.68	0.03
	2			0.291	1.051	9.65		
	3			0.285	1.044	9.70		
Fermented Day 7	1	0.020	0.973	0.246	1.150	2.45	2.35	0.22
	2			0.240	1.151	2.10		
	3			0.245	1.148	2.50		

ตารางที่ ง.30 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.020	0.973	0.362	1.099	10.80	10.87	0.21
	2			0.350	1.081	11.10		
	3			0.360	1.099	10.70		
Control Day7	1	0.020	0.973	0.349	1.099	10.15	10.67	0.53
	2			0.359	1.088	11.20		
	3			0.351	1.091	10.65		
Fermented Day 7	1	0.020	0.973	0.407	1.319	2.05	5.70	3.28
	2			0.498	1.283	8.40		
	3			0.470	1.290	6.65		

ตารางที่ ง.31 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.020	0.973	0.286	0.998	12.05	12.15	0.51
	2			0.292	0.991	12.70		
	3			0.280	0.999	11.70		
Control Day7	1	0.020	0.973	0.276	1.001	11.40	11.38	0.48
	2			0.283	0.999	11.85		
	3			0.269	1.004	10.90		
Fermented Day 7	1	0.020	0.973	0.198	1.112	1.95	2.12	0.38
	2			0.206	1.108	2.55		
	3			0.200	1.116	1.85		

ตารางที่ ง.32 ปริมาณ trypsin inhibitor หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD410				TIU/g	Mean	SD
		a	b	c	d			
Control Day 0	1	0.020	0.973	0.298	0.999	12.60	12.03	0.94
	2			0.295	0.997	12.55		
	3			0.267	1.001	10.95		
Control Day7	1	0.020	0.973	0.301	1.021	11.65	11.98	0.49
	2			0.311	1.013	12.55		
	3			0.306	1.024	11.75		
Fermented Day 7	1	0.020	0.973	0.389	1.201	7.05	7.32	0.88
	2			0.399	1.186	8.30		
	3			0.372	1.193	6.60		

ง.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณ Lectin

ตารางที่ ง.33 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	2	12.50	12.50	0.00
	2	2	12.50		
	3	2	12.50		
Control Day7	1	2	12.50	12.50	0.00
	2	2	12.50		
	3	2	12.50		
Fermented Day 7	1	8	3.13	3.13	0.00
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		

ตารางที่ ง.34 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	4	6.25	6.25	0.00
	2	4	6.25		
	3	4	6.25		
Control Day7	1	4	6.25	6.25	0.00
	2	4	6.25		
	3	4	6.25		
Fermented Day 7	1	16	1.56	1.56	0.00
	2	16	1.56		
	3	16	1.56		

ตารางที่ ง.35 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	4	6.25	6.25	0
	2	4	6.25		
	3	4	6.25		
Control Day7	1	4	6.25	6.25	0.00
	2	4	6.25		
	3	4	6.25		
Fermented Day 7	1	2	12.50	12.50	0.00
	2	2	12.50		
	3	2	12.50		

ตารางที่ ง.36 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	8	3.13	3.13	0
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Control Day7	1	8	3.13	3.13	0
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Fermented Day 7	1	2	12.50	12.50	0
	2	2	12.50		
	3	2	12.50		

ตารางที่ ง.37 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	8	3.13	3.13	0
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Control Day7	1	4	6.25	4.17	1.80
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Fermented Day 7	1	64	0.39	0.39	0.00
	2	64	0.39		
	3	64	0.39		

ตารางที่ ง.38 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	8	3.13	2.60	0.90
	2	8	3.13		
	3	16	1.56		
Control Day7	1	8	3.13	2.60	0.90
	2	16	1.56		
	3	8	3.13		
Fermented Day 7	1	64	0.39	0.52	0.23
	2	64	0.39		
	3	32	0.78		

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

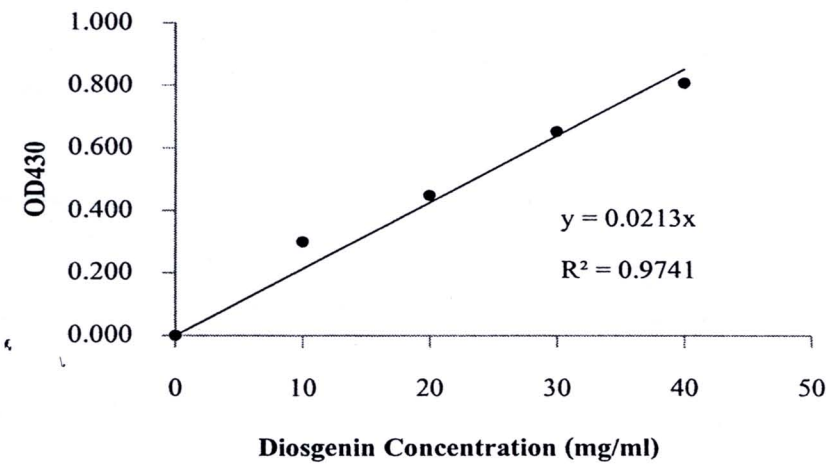
ตารางที่ ง.39 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	8	3.13	2.60	0.90
	2	8	3.13		
	3	16	1.56		
Control Day7	1	4	6.25	4.17	1.80
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Fermented Day 7	1	64	0.39	1.17	0.68
	2	16	1.56		
	3	16	1.56		

ตารางที่ ง.40 ปริมาณ lectin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	HU Dilution factor	HU (mg/ml)	Mean	SD
Control Day 0	1	8	3.13	3.13	0.00
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Control Day7	1	8	3.13	3.13	0.00
	2	8	3.13		
	3	8	3.13		
Fermented Day 7	1	16	1.56	1.56	0.00
	2	16	1.56		
	3	16	1.56		

ง.2.5 การวิเคราะห์ปริมาณ Saponin



รูปที่ ง.12 กราฟมาตรฐานของ Diosgenin

ตารางที่ ง.41 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.212	9.95	0.50	0.50	0.00
	2	0.213	10.00	0.50		
	3	0.209	9.81	0.49		
Control Day7	1	0.165	7.75	0.39	0.38	0.01
	2	0.169	7.93	0.40		
	3	0.157	7.37	0.37		
Fermented Day 7	1	0.323	15.16	0.76	0.76	0.00
	2	0.327	15.35	0.77		
	3	0.326	15.31	0.77		

ตารางที่ ง.42 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. niger* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.276	12.96	0.65	0.62	0.02
	2	0.259	12.16	0.61		
	3	0.262	12.30	0.62		
Control Day7	1	0.233	10.94	0.55	0.55	0.01
	2	0.230	10.80	0.54		
	3	0.237	11.13	0.56		
Fermented Day 7	1	0.463	21.74	1.09	1.05	0.03
	2	0.434	20.38	1.02		
	3	0.451	21.17	1.06		

ตารางที่ ง.43 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.333	15.63	0.78	0.79	0.01
	2	0.334	15.68	0.78		
	3	0.339	15.92	0.80		
Control Day7	1	0.150	7.04	0.35	0.35	0.00
	2	0.149	7.00	0.35		
	3	0.151	7.09	0.35		
Fermented Day 7	1	0.159	7.46	0.37	0.37	0.00
	2	0.156	7.32	0.37		
	3	0.158	7.42	0.37		

ตารางที่ ง.44 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *A. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.258	12.11	0.61	0.61	0.00
	2	0.261	12.25	0.61		
	3	0.257	12.07	0.60		
Control Day7	1	0.216	10.14	0.51	0.52	0.02
	2	0.231	10.85	0.54		
	3	0.222	10.42	0.52		
Fermented Day 7	1	0.757	35.54	1.78	1.76	0.02
	2	0.741	34.79	1.74		
	3	0.756	35.49	1.77		

ตารางที่ ง.45 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.124	5.82	0.29	0.29	0.00
	2	0.125	5.87	0.29		
	3	0.124	5.82	0.29		
Control Day7	1	0.087	4.08	0.20	0.21	0.00
	2	0.091	4.27	0.21		
	3	0.088	4.13	0.21		
Fermented Day 7	1	0.141	6.62	0.33	0.33	0.00
	2	0.140	6.57	0.33		
	3	0.139	6.53	0.33		

ตารางที่ ง.46 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oryzae* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.225	10.56	0.53	0.53	0.00
	2	0.224	10.52	0.53		
	3	0.225	10.56	0.53		
Control Day7	1	0.201	9.44	0.47	0.47	0.00
	2	0.203	9.53	0.48		
	3	0.200	9.39	0.47		
Fermented Day 7	1	0.439	20.61	1.03	1.02	0.01
	2	0.431	20.23	1.01		
	3	0.437	20.52	1.03		

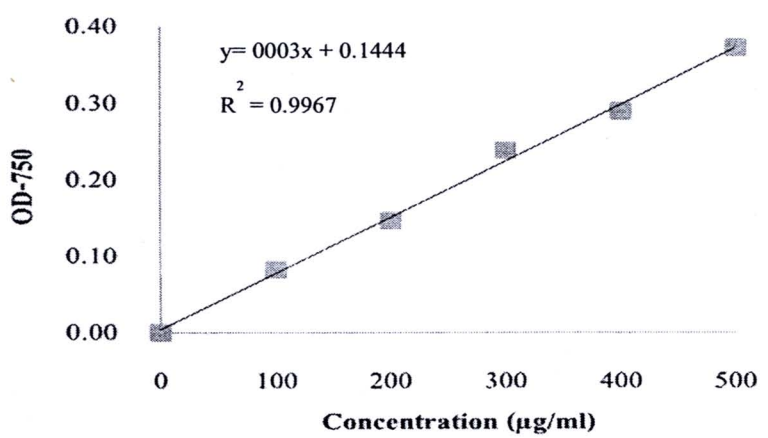
ตารางที่ ง.47 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.181	8.50	0.42	0.45	0.02
	2	0.200	9.39	0.47		
	3	0.196	9.20	0.46		
Control Day7	1	0.172	8.08	0.40	0.40	0.00
	2	0.169	7.93	0.40		
	3	0.171	8.03	0.40		
Fermented Day 7	1	0.204	9.58	0.48	0.50	0.02
	2	0.211	9.91	0.50		
	3	0.221	10.38	0.52		

ตารางที่ ง.48 ปริมาณ saponin หลังการหมักแบบอาหารแข็งด้วย *R. oligosporus* ในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	Mean	SD
Control Day 0	1	0.330	15.49	0.77	0.77	0.00
	2	0.327	15.35	0.77		
	3	0.331	15.54	0.78		
Control Day7	1	0.298	13.99	0.70	0.68	0.02
	2	0.282	13.24	0.66		
	3	0.287	13.47	0.67		
Fermented Day 7	1	0.343	16.10	0.81	0.81	0.01
	2	0.339	15.92	0.80		
	3	0.351	16.48	0.82		

ง.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนวิธี Lowry



รูปที่ ง.13 กราฟมาตรฐานของ Bovine serum albumin

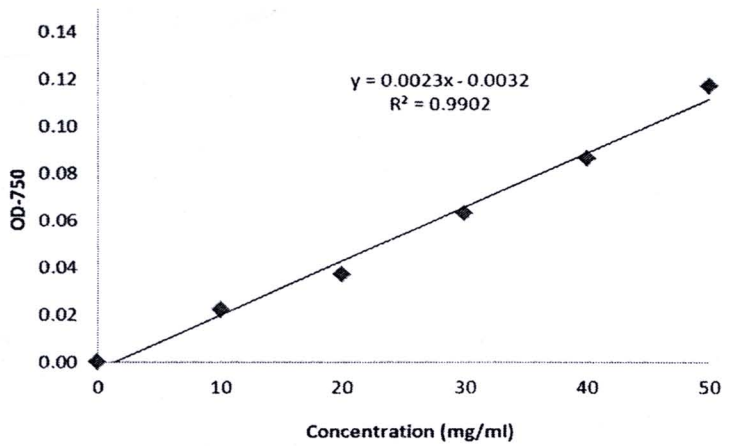
ตารางที่ ง.49 ปริมาณโปรตีนหลังการหมักแบบอาหารเหลวในวันที่ 7

Sample	Rep	OD-750	mean	SD	Dilution factor	Protein (µg/ml)	Protein (mg/ml)
Control	1	0.2742	0.2966	0.03	100	50733.33	50.73
	2	0.3190					
A. niger	1	0.2634	0.2747	0.02	100	43444.44	43.44
	2	0.2963					
	3	0.2645					
A. oryzae	1	0.7156	0.7189	0.05	100	191500.00	191.50
	2	0.6754					
	3	0.7657					
R.oryzae	1	0.2622	0.2608	0.04	100	38811.11	38.81
	2	0.2185					
	3	0.3018					
R. oligosporus	1	0.2475	0.2668	0.03	100	40811.11	40.81
	2	0.2975					
	3	0.2555					

ตารางที่ ง.50 ปริมาณโปรตีนหลังการหมักแบบอาหารแข็งในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-750	mean	SD	Dilution factor	Protein (µg/ml)	Protein (mg/ml)
Control	1	0.1537	0.1490	0.00	50	772.22	0.77
	2	0.1493					
	3	0.1441					
A. niger	1	0.2243	0.1820	0.04	50	6261.11	6.26
	2	0.1471					
	3	0.1745					
A. oryzae	1	0.1445	0.1655	0.02	50	3511.11	3.51
	2	0.1634					
	3	0.1885					
R.oryzae	1	0.3880	0.3773	0.04	50	38816.67	38.82
	2	0.3373					
	3	0.4066					
R. oligosporus	1	0.2633	0.2900	0.04	50	24261.11	24.26
	2	0.3310					
	3	0.2756					

ง.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน โดยวิธี TNBS



รูปที่ ง.14 กราฟมาตรฐานของปริมาณกรดอะมิโนลิวซีนด้วยวิธี TNBS

ตารางที่ ง.51 ปริมาณกรดอะมิโนหลังการหมักแบบอาหารเหลวในวันที่ 7

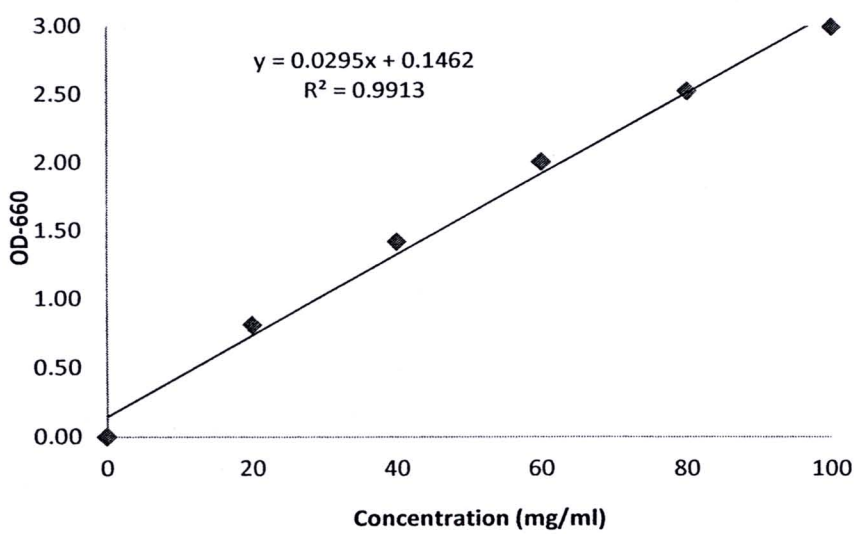
Sample	Rank	OD-750	amino acid (µg/ml)	Mean	SD	amino acid (µg/ml)
Control	1	0.079	35.739	0.080	0.02	36.17
	2	0.081	36.609			
	3	0.052	24.000			
A. niger	1	0.122	54.435	0.190	0.07	83.86
	2	0.178	78.783			
	3	0.269	118.348			
A. oryzae	1	0.278	122.261	0.274	0.01	120.52
	2	0.267	117.478			
	3	0.277	121.826			
R. oryzae	1	0.265	116.609	0.401	0.27	175.88
	2	0.224	98.783			
	3	0.715	312.261			
R. oligosporus	1	0.414	181.391	0.399	0.04	174.87
	2	0.424	185.739			
	3	0.359	157.478			

ตารางที่ ง.52 ปริมาณกรดอะมิโนหลังการหมักแบบอาหารแข็งในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-750	amino acid (µg/ml)	mean	SD	amino acid (µg/ml)
Control	1	0.000	1.391	0.000	0.00	1.39
	2	0.000	1.391			
	3	0.000	1.391			
A. niger	1	0.095	42.696	0.085	0.01	38.20
	2	0.076	34.435			
	3	0.083	37.478			
A. oryzae	1	0.129	57.478	0.170	0.04	75.30
	2	0.190	84.000			
	3	0.191	84.435			
R. oryzae	1	0.188	83.130	0.207	0.03	91.25
	2	0.195	86.174			
	3	0.237	104.435			
R. oligosporus	1	0.247	108.783	0.243	0.02	107.04
	2	0.260	114.435			
	3	0.222	97.913			

ง.5 กิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำ

ง.5.1 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส



รูปที่ ง.15 กราฟมาตรฐานของปริมาณกรดอะมิโนไทโรซีน

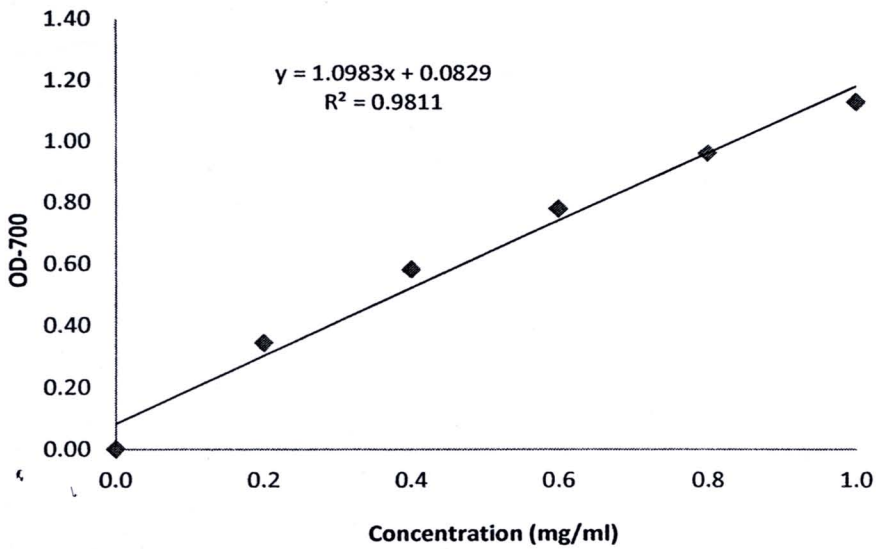
ตารางที่ ง.53 กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสหลังการหมักแบบอาหารเหลวในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-660	mean	SD	Protease (unit/ml)
Control	1	0.311	0.305	0.02	-
	2	0.298			
	3	0.329			
A. niger	1	0.448	0.366	0.07	0.07
	2	0.320			
	3	0.329			
A. oryzae	1	0.342	0.387	0.04	0.09
	2	0.399			
	3	0.420			
R. oryzae	1	0.785	0.734	0.05	0.49
	2	0.689			
	3	0.727			
R. oligosporus	1	0.596	0.662	0.09	0.41
	2	0.760			
	3	0.631			

ตารางที่ ง.54 กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสหลังการหมักแบบอาหารแข็งในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-660	mean	SD	Protease (unit/ml)
Control	1	0.386	0.383	0.02	
	2	0.397			
	3	0.367			
A. niger	1	0.967	0.961	0.03	0.66
	2	0.931			
	3	0.985			
A. oryzae	1	0.931	0.938	0.04	0.64
	2	0.897			
	3	0.986			
R. oryzae	1	1.028	1.083	0.05	0.80
	2	1.097			
	3	1.124			
R. oligosporus	1	0.981	0.966	0.01	0.67
	2	0.965			
	3	0.953			

ง.5.2 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ไฟเตส



รูปที่ ง.16 กราฟมาตรฐานของปริมาณ K_2HPO_4

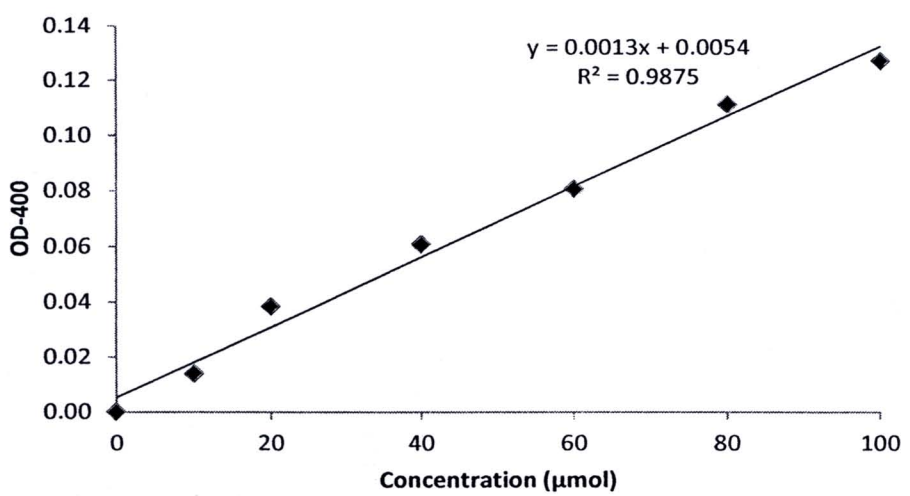
ตารางที่ ง.55 กิจกรรมเอนไซม์ไฟเตสหลังการหมักแบบอาหารเหลวในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-700	Average	SD	Phytase (unit/ml)
Control	1	0.250	0.284	0.11	-
	2	0.318			
	3	0.468			
A. niger	1	1.195	1.194	0.00	50.98
	2	1.189			
	3	1.198			
A. oryzae	1	0.769	0.742	0.13	16.04
	2	0.860			
	3	0.596			
R. oryzae	1	0.883	0.810	0.15	21.32
	2	0.633			
	3	0.914			
R. oligosporus	1	0.979	0.891	0.12	27.60
	2	0.761			
	3	0.934			

ตารางที่ ง.56 กิจกรรมเอนไซม์ไฟเตสหลังการหมักแบบอาหารแข็งในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-700	Average	SD	Phytase (unit/ml)
Control	1	0.128	0.124	0.01	-
	2	0.129			
	3	0.116			
A. niger	1	0.887	0.894	0.01	47.60
	2	0.892			
	3	0.903			
A. oryzae	1	0.463	0.447	0.02	13.05
	2	0.428			
	3	0.449			
R. oryzae	1	0.535	0.546	0.04	20.73
	2	0.512			
	3	0.591			
R. oligosporus	1	0.503	0.605	0.10	25.31
	2	0.702			
	3	0.611			

ง.5.3 การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เอสเทอเรส



รูปที่ ง.17 กราฟมาตรฐานของปริมาณ *p*-nitrophenol

ตารางที่ ง.57 กิจกรรมเอนไซม์เอสเทอเรสหลังการหมักแบบอาหารเหลวในวันที่ 7

Sample	Rank	OD-400	mean	SD	Phytase (unit/ml)
Control	1	0.0954	0.1001	0.01	
	2	0.1084			
	3	0.0965			
A. niger	1	0.1652	0.1625	0.00	106.67
	2	0.1578			
	3	0.1645			
A. oryzae	1	0.6501	0.61	0.03	871.62
	2	0.5934			
	3	0.5865			
R. oryzae	1	0.3011	0.2572	0.04	268.55
	2	0.2529			
	3	0.2176			
R. oligosporus	1	0.7549	0.791267	0.03	1181.48
	2	0.8101			
	3	0.8088			

ง.6 การหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วย *R. oligosporus* แบบอาหารเหลว

ตารางที่ ง.58 ปริมาณกลูโคซามีนและค่า pH ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep	OD-530	glucosamine (mg/ml)	glucosamine (mg/g)	mean	sd	pH	mean	SD
	1	0.0051	5.09	10.18			6.89		
0	2	0.0038	4.50	9.00			6.88		
	3	0.0040	4.59	9.18	9.45	0.64	6.88	6.88	0.00
	1	0.0277	15.36	30.73			7.02		
1	2	0.0276	15.32	30.64			7.02		
	3	0.0289	15.91	31.82	31.06	0.66	7.03	7.02	0.00
	1	0.0378	19.95	39.91			7.15		
2	2	0.0363	19.27	38.55			7.11		
	3	0.0385	20.27	40.55	39.67	1.02	7.15	7.14	0.01
	1	0.0698	34.50	69.01			7.20		
3	2	0.0669	33.18	66.36			7.20		
	3	0.0674	33.41	66.82	67.40	1.41	7.18	7.19	0.01
	1	0.0785	38.45	76.91			7.28		
4	2	0.0771	37.82	75.64			7.29		
	3	0.0765	37.55	75.09	75.88	0.93	7.24	7.27	0.02
	1	0.0984	47.50	95.00			7.43		
5	2	0.0977	47.18	94.36			7.44		
	3	0.0991	47.82	95.64	95.00	0.64	7.47	7.45	0.02
	1	0.1076	51.68	103.36			7.54		
6	2	0.1062	51.05	102.09			7.57		
	3	0.1059	50.91	101.82	102.42	0.82	7.58	7.56	0.01
	1	0.1120	53.68	107.36			7.81		
7	2	0.1091	52.36	104.73			7.78		
	3	0.1114	53.41	106.82	106.30	1.39	7.79	7.79	0.00

ตารางที่ ง.59 ปริมาณ phorbol ester ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	Retention time (min)	Area	Phorbol esters (µg/g)	mean	SD
0	1	14.542-16.930	103340	8.67		
	2	14.555-16.957	100265	8.41		
	3	14.410-16.773	101273	8.49	8.52	0.13
1	1	15.454-16.390	20412	1.71		
	2	14.080-16.525	96528	8.10		
	3	14.101-16.544	91114	7.64	5.82	3.56
2	1	14.492-16.887	40522	3.40		
	2	14.519-16.850	35546	2.98		
	3	14.403-16.772	48766	4.09	3.49	0.56
3	1	14.807-16.509	31504	2.64		
	2	14.943-16.705	32573	2.73		
	3	14.959-16.703	35036	2.94	2.77	0.15
4	1	14.416-16.961	39559	3.32		
	2	14.358-16.916	28846	2.42		
	3	14.157-16.592	23831	2.00	2.58	0.67
5	1	14.556-16.915	22259	1.87		
	2	14.661-16.353	25531	2.14		
	3	14.754-16.419	24730	2.07	2.03	0.14
6	1	14.656-16.315	24465	2.05		
	2	14.646-16.297	24565	2.06		
	3	14.609-16.285	22483	1.89	2.00	0.10
7	1	14.489-16.149	17803	1.49		
	2	14.467	14270	1.20		
	3	14.521-16.900	22950	1.92	1.54	0.37

ตารางที่ ง.60 ปริมาณ phytic acid ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	Dilution Factor	OD-500	phytic acid ug/ml	phytic acid mg/g	mean	sd
0	1	10	0.0288	928.42	18.57		
	2	10	0.0209	949.21	18.98		
	3	10	0.0221	946.05	18.92	18.82	0.22
1	1	10	0.0401	898.68	17.97		
	2	10	0.0399	899.21	17.98		
	3	10	0.0360	909.47	18.19	18.05	0.12
2	1	10	0.0719	815.00	16.30		
	2	10	0.0696	821.05	16.42		
	3	10	0.0744	808.42	16.17	16.30	0.13
3	1	10	0.1641	572.37	11.45		
	2	10	0.1659	567.63	11.35		
	3	10	0.1588	586.32	11.73	11.51	0.19
4	1	10	0.1753	542.89	10.86		
	2	10	0.1744	545.26	10.91		
	3	10	0.1780	535.79	10.72	10.83	0.10
5	1	10	0.1888	507.37	10.15		
	2	10	0.1901	503.95	10.08		
	3	10	0.1900	504.21	10.08	10.10	0.04
6	1	10	0.1987	481.32	9.63		
	2	10	0.1956	489.47	9.79		
	3	10	0.1922	498.42	9.97	9.79	0.17
7	1	10	0.2111	448.68	8.97		
	2	10	0.2079	457.11	9.14		
	3	10	0.2021	472.37	9.45	9.19	0.24

ตารางที่ ง.61 ปริมาณ trypsin inhibitor ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	OD410				TIU/g	mean	SD
		a	b	c	d			
0	1	0.0018	0.981	0.301	0.998	14.11		
	2	0.0018	0.981	0.299	1.002	13.81		
	3	0.0018	0.981	0.298	1.005	13.61	13.84	0.25
1	1	0.0018	0.981	0.277	1.012	12.21		
	2	0.0018	0.981	0.275	1.009	12.26		
	3	0.0018	0.981	0.280	1.015	12.21	12.23	0.03
2	1	0.0018	0.981	0.268	1.007	12.01		
	2	0.0018	0.981	0.261	1.010	11.51		
	3	0.0018	0.981	0.256	1.009	11.31	11.61	0.36
3	1	0.0018	0.981	0.237	1.013	10.16		
	2	0.0018	0.981	0.238	1.011	10.31		
	3	0.0018	0.981	0.234	1.009	10.21	10.23	0.08
4	1	0.0018	0.981	0.232	1.008	10.16		
	2	0.0018	0.981	0.229	1.007	10.06		
	3	0.0018	0.981	0.231	1.007	10.16	10.13	0.06
5	1	0.0018	0.981	0.215	1.007	9.36		
	2	0.0018	0.981	0.215	1.003	9.56		
	3	0.0018	0.981	0.208	1.016	8.56	9.16	0.53
6	1	0.0018	0.981	0.201	1.011	8.46		
	2	0.0018	0.981	0.208	1.009	8.91		
	3	0.0018	0.981	0.209	1.012	8.81	8.73	0.24
7	1	0.0018	0.981	0.138	1.014	5.16		
	2	0.0018	0.981	0.156	1.007	6.41		
	3	0.0018	0.981	0.161	1.013	6.36	5.98	0.71

ตารางที่ ง.62 ปริมาณ lectin ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	HU Dilution factor	HU (mgSC/ml)	Average	SD
0	1	2	12.50		
	2	2	12.50		
	3	2	12.50	12.50	0.00
1	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
2	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
3	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
4	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
5	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
6	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00
7	1	4	6.25		
	2	4	6.25		
	3	4	6.25	6.25	0.00

ตารางที่ ง.63 ปริมาณ saponin ระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

day	Rep	OD-430	Saponin (mg/ml)	Saponin (mg/g)	mean	sd
0	1	0.1256	6.07	12.14		
	2	0.1245	6.01	12.03		
	3	0.1259	6.08	12.16	12.11	0.07
1	1	0.1231	5.95	11.89		
	2	0.1229	5.94	11.87		
	3	0.1245	6.01	12.03	11.93	0.08
2	1	0.1212	5.86	11.71		
	2	0.1208	5.84	11.67		
	3	0.1226	5.92	11.85	11.74	0.09
3	1	0.1191	5.75	11.51		
	2	0.1184	5.72	11.44		
	3	0.1188	5.74	11.48	11.48	0.03
4	1	0.1162	5.61	11.23		
	2	0.1156	5.58	11.17		
	3	0.1170	5.65	11.30	11.23	0.07
5	1	0.1119	5.41	10.81		
	2	0.1127	5.44	10.89		
	3	0.1111	5.37	10.73	10.81	0.08
6	1	0.1108	5.35	10.71		
	2	0.1106	5.34	10.69		
	3	0.1113	5.38	10.75	10.71	0.03
7	1	0.1118	5.40	10.80		
	2	0.1109	5.36	10.71		
	3	0.1113	5.38	10.75	10.76	0.04

ตารางที่ ง.64 ปริมาณโปรตีนระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	Dilution Factor	OD-750	Protein (µg/ml)	Protein (mg/ml)	mean	sd
0	1	100	0.5081	36900.00	36.90		
	2	100	0.5074	36846.15	36.85		
	3	100	0.5076	36861.54	36.86	36.87	0.03
1	1	100	0.5863	42915.38	42.92		
	2	100	0.5663	41376.92	41.38		
	3	100	0.5721	41823.08	41.82	42.04	0.79
2	1	100	0.6400	47046.15	47.05		
	2	100	0.6395	47007.69	47.01		
	3	100	0.6425	47238.46	47.24	47.10	0.12
3	1	100	0.6886	50784.62	50.78		
	2	100	0.7043	51992.31	51.99		
	3	100	0.7204	53230.77	53.23	52.00	1.22
4	1	100	0.7589	56192.31	56.19		
	2	100	0.7598	56261.54	56.26		
	3	100	0.7472	55292.31	55.29	55.92	0.54
5	1	100	0.7841	58130.77	58.13		
	2	100	0.7771	57592.31	57.59		
	3	100	0.7792	57753.85	57.75	57.83	0.28
6	1	100	0.9258	69030.77	69.03		
	2	100	0.9315	69469.23	69.47		
	3	100	0.9293	69300.00	69.30	69.27	0.22
7	1	100	0.9657	72100.00	72.10		
	2	100	0.9880	73815.38	73.82		
	3	100	0.9730	72661.54	72.66	72.86	0.87

ตารางที่ ง.65 ปริมาณกรดอะมิโนระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	OD-420	amino acid (µg/ml)	mean	sd
0	1	0.067	29.91		
	2	0.071	31.65		
	3	0.059	26.43	29.33	2.66
1	1	0.092	40.78		
	2	0.086	38.17		
	3	0.101	44.70	41.22	3.28
2	1	0.103	45.57		
	2	0.114	50.35		
	3	0.119	52.52	49.48	3.56
3	1	0.177	77.74		
	2	0.181	79.48		
	3	0.169	74.26	77.16	2.66
4	1	0.298	130.35		
	2	0.281	122.96		
	3	0.293	128.17	127.16	3.80
5	1	0.312	136.43		
	2	0.321	140.35		
	3	0.315	137.74	138.17	1.99
6	1	0.387	169.04		
	2	0.368	160.78		
	3	0.377	164.70	164.84	4.13
7	1	0.423	185.304		
	2	0.419	183.565		
	3	0.431	188.783	185.88	2.66

สำนักงานคณะกรรมการวิจัย ห้องสมุดงานวิจัย

ตารางที่ ง.66 กิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep.	OD-660	Protease (unit/ml)	mean	sd
0	1	0.3249	1.13		
	2	0.3198	1.10		
	3	0.3171	1.09	1.11	0.02
1	1	1.0587	4.72		
	2	1.0686	4.77		
	3	1.0770	4.81	4.77	0.04
2	1	1.1924	5.38		
	2	1.1903	5.37		
	3	1.1001	4.93	5.22	0.26
3	1	1.2920	5.87		
	2	1.2852	5.83		
	3	1.2296	5.56	5.75	0.17
4	1	1.3807	6.30		
	2	1.3850	6.32		
	3	1.3964	6.38	6.33	0.04
5	1	1.5437	7.10		
	2	1.5815	7.29		
	3	1.5035	6.90	7.10	0.19
6	1	1.7414	8.07		
	2	1.7403	8.06		
	3	1.7120	7.93	8.02	0.08
7	1	1.8343	8.53		
	2	1.8482	8.59		
	3	1.8757	8.73	8.62	0.10

ตารางที่ ง.67 กิจกรรมเอนไซม์ไฟเตสระหว่างการหมักแบบอาหารเหลวด้วย *R. oligosporus* เป็นเวลา 7 วัน

Day	Rep	Dilution Factor	OD-700		Unit/ml	mean	sd
			control	sample			
0	1	10	0.0294	0.0353	0.19		
	2	10	0.0294	0.0362	0.22		
	3	10	0.0294	0.0366	0.24	0.21	0.03
1	1	10	0.0294	0.0416	0.45		
	2	10	0.0294	0.0423	0.49		
	3	10	0.0294	0.0410	0.42	0.45	0.03
2	1	10	0.0294	0.0537	1.16		
	2	10	0.0294	0.0549	1.25		
	3	10	0.0294	0.0550	1.26	1.22	0.05
3	1	10	0.0294	0.0821	3.86		
	2	10	0.0294	0.0843	4.13		
	3	10	0.0294	0.0837	4.05	4.01	0.14
4	1	10	0.0294	0.0964	5.76		
	2	10	0.0294	0.0972	5.88		
	3	10	0.0294	0.0970	5.85	5.83	0.06
5	1	10	0.0294	0.1458	15.14		
	2	10	0.0294	0.1432	14.53		
	3	10	0.0294	0.1449	14.93	14.86	0.31
6	1	10	0.0294	0.1360	12.93		
	2	10	0.0294	0.1355	12.82		
	3	10	0.0294	0.1363	12.99	12.91	0.09
7	1	10	0.0294	0.1262	10.89		
	2	10	0.0294	0.1265	10.95		
	3	10	0.0294	0.1254	10.74	10.86	0.11

ง.7 การศึกษาการเจริญเติบโตของพืช

ตารางที่ ง.68 เปอร์เซ็นต์ความงอก (%G) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์ที่ระยะเวลา 14 วัน หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์ และชุดควบคุม

sample	Replication				Average	SD
	1	2	3	4		
Aspergillus niger	41	70	71	67	69.3	2.1
Aspergillus oryzae	24	61	79	51	63.7	14.2
Rhizopus oryzae	35	66	70	71	69.0	2.6
Rhizopus oligosporus	34	72	87	82	80.3	7.6
Control seedcake	26	34	45	66	35.0	9.5
water	34	23	72	71	59.0	21.7
Urea	0	0	0	0	0.0	0.0
Commercial fertilizer	22	25	29	22	24.5	3.3

ตารางที่ ง.69 เปอร์เซ็นต์การแทงราก (%RE) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์ที่ระยะเวลา 14 วัน หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

sample	Replication				Average	SD
	1	2	3	4		
Aspergillus niger	74	86	89	67	79.0	10.3
Aspergillus oryzae	43	77	90	78	81.7	7.2
Rhizopus oryzae	66	72	89	90	83.7	10.1
Rhizopus oligosporus	62	89	98	97	94.7	4.9
Control seedcake	44	55	67	89	63.8	19.3
water	62	54	91	93	75.0	19.9
Urea	0	3	3	1	1.8	1.5
Commercial fertilizer	38	42	41	37	39.5	2.4

ตารางที่ ง.70 อัตราการเจริญของต้นกล้า (SGR) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์ ที่ระยะเวลา 14 วัน หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์ และชุดควบคุม

sample	Replication				Average	SD
	1	2	3	4		
Aspergillus niger	1.71	3.12	3.19	3.05	3.12	0.07
Aspergillus oryzae	2.58	2.13	2.13	2.69	2.38	0.29
Rhizopus oryzae	2.75	2.06	2.46	2.91	2.54	0.37
Rhizopus oligosporus	4.42	4.33	2.56	2.93	3.89	0.84
Control seedcake	2.57	1.86	2.79	2.32	2.56	0.23
water	2.42	1.54	0.74	0.61	0.96	0.51
Urea	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Commercial fertilizer	2.90	1.53	1.99	1.16	1.56	0.42

ตารางที่ ง.71 ดัชนีการงอก (GI) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์ หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

sample	Replication				Average	SD
	1	2	3	4		
Aspergillus niger	10.60*	57.03*	20.26	23.82	22.04	2.52
Aspergillus oryzae	7.37*	39.50*	29.01	15.37	22.19	9.64
Rhizopus oryzae	9.40*	37.85*	20.36	26.78	23.57	4.54
Rhizopus oligosporus	14.66*	59.37*	31.40	28.78	30.09	1.85
Control seedcake	7.44*	36.76*	20.45	17.51	18.98	2.07
water	9.66*	32.88*	23.51	20.34	21.93	2.24
Urea	0.00	5.75*	0.00	0.00	0.00	0.00
Commercial fertilizer	6.09	28.14*	9.80	4.80	6.90	2.60

* ไม่นำมาคิดค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ ง.72 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (mm) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{X}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	1.85	1.61	1.94	1.86	1.66	1.78±0.41
Urea	1.64	1.94	1.56	1.77	1.57	1.70±0.36
Commercial fertilizer	2.15	1.96	1.79	2.10	2.44	2.09±0.44
Control seedcake	2.25	2.14	2.15	1.66	2.71	2.18±0.45
Rhizopus oligosporus	2.79	2.47	3.21	2.49	3.26	2.30±0.65
Rhizopus oryzae	2.03	2.13	2.39	2.20	2.63	2.23±0.54
Aspergillus niger	1.80	2.00	2.33	2.04	3.33	2.27±0.46
Aspergillus oryzae	1.93	2.07	2.31	1.92	2.91	2.84±0.46

ตารางที่ ง.73 ความสูงลำต้น (cm) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{X}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	12.10	11.67	8.47	10.31	10.40	10.59±2.21
Urea	11.33	13.09	10.06	11.24	10.90	11.33±2.02
Commercial fertilizer	14.17	14.83	12.93	11.80	14.63	13.67±1.85
Control seedcake	15.10	16.10	13.15	10.69	16.10	14.23±2.59
Rhizopus oligosporus	18.73	19.77	19.41	15.19	21.97	15.81±3.36
Rhizopus oryzae	15.03	16.33	14.32	14.07	17.50	15.91±3.18
Aspergillus niger	14.20	16.71	13.97	13.11	21.07	15.45±2.40
Aspergillus oryzae	15.00	17.07	14.22	13.40	19.85	19.01±2.82

ตารางที่ ง.74 น้ำหนักแห้ง (g) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{X}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	0.16	0.13	0.10	0.17	0.12	0.13±0.07
Urea	0.11	0.15	0.12	0.13	0.12	0.12±0.06
Commercial fertilizer	0.21	0.21	0.18	0.22	0.25	0.21±0.08
Control seedcake	0.25	0.22	0.25	0.12	0.27	0.22±0.08
Rhizopus oligosporus	0.61	0.37	0.85	0.32	0.80	0.29±0.16
Rhizopus oryzae	0.21	0.21	0.26	0.21	0.35	0.28±0.16
Aspergillus niger	0.18	0.21	0.27	0.20	0.57	0.25±0.12
Aspergillus oryzae	0.21	0.24	0.29	0.18	0.47	0.59±0.29

ตารางที่ ง.75 น้ำหนักสด (g) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{X}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	2.44	1.86	1.46	2.38	1.72	1.97±0.69
Urea	1.96	2.33	1.77	2.16	1.91	2.03±0.78
Commercial fertilizer	2.91	3.01	2.33	2.79	3.23	2.85±0.91
Control seedcake	3.12	3.33	3.18	1.90	4.08	3.12±1.08
Rhizopus oligosporus	5.77	4.70	9.07	3.85	6.50	3.79±1.90
Rhizopus oryzae	2.76	3.27	3.38	3.01	5.26	3.73±2.02
Aspergillus niger	2.60	3.12	3.24	2.98	6.99	3.53±1.72
Aspergillus oryzae	2.86	3.36	3.38	2.82	6.25	6.03±2.32

ตารางที่ ง.76 ค่า L* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{x}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	46.87	45.565	48.33	48.12	45.325	46.84±1.70
Urea	45.61	45.825	45.39	45.21	45.93	45.59±1.31
Commercial fertilizer	47.99	44.09	46.18	44.82	38.81	44.38±3.35
Control seedcake	51.79	47.01	50.85	43.58	51.64	48.97±3.44
Rhizopus oligosporus	52.29	49.365	45.79	50.99	49.39	48.7±2.62
Rhizopus oryzae	39.71	44.05	46.98	48.635	46.87	47.59±2.06
Aspergillus niger	52.56	50.10	48.28	46.25	46.31	45.25±3.34
Aspergillus oryzae	44.47	47.03	47.32	50.055	49.09	49.56±2.76

ตารางที่ ง.77 ค่า a* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{x}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	-5.51	-7.60	-8.75	-6.29	-5.88	-6.80±1.29
Urea	-6.72	-6.01	-7.56	-6.58	-5.69	-6.51±0.72
Commercial fertilizer	-5.66	-6.66	-6.08	-6.68	-6.90	-6.39±0.51
Control seedcake	-5.48	-6.04	-6.29	-6.52	-5.53	-5.97±0.49
Rhizopus oligosporus	-5.47	-5.74	-5.60	-5.89	-6.30	-6.36±0.79
Rhizopus oryzae	-7.04	-6.74	-6.48	-6.46	-5.98	-6.14±0.57
Aspergillus niger	-5.68	-5.35	-6.57	-7.035	-7.16	-6.54±0.52
Aspergillus oryzae	-6.57	-6.18	-5.47	-5.76	-6.71	-5.80±0.41

ตารางที่ ง.78 ค่า b* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค หลังทดสอบด้วยน้ำหมักกากเมล็ดสบู่ดำด้วยเชื้อรา 4 สายพันธุ์และชุดควบคุม

treatment	Replication					$\bar{x}$±SD
	1	2	3	4	5	
water	7.40	13.16	17.67	10.52	8.62	11.47±3.92
Urea	9.99	9.08	13.09	9.95	7.24	9.87±2.06
Commercial fertilizer	6.33	10.05	8.33	9.60	12.09	9.28±2.11
Control seedcake	6.14	8.00	8.51	9.61	5.31	7.51±1.73
Rhizopus oligosporus	4.87	8.01	5.77	6.74	11.11	10.18±3.55
Rhizopus oryzae	12.17	9.61	9.07	8.49	5.19	7.95±1.88
Aspergillus niger	6.89	5.84	11.44	12.04	14.71	8.91±2.41
Aspergillus oryzae	10.88	8.02	6.78	5.79	8.30	7.30±2.33

ตารางที่ ง.79 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์ความงอก (%G) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	14611.875	7	2087.411	6.551	.000
Within Groups	7647.000	24	318.625		
Total	22258.875	31			

Duncan[a]

G	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
7.00	4	.0000		
8.00	4	24.5000	24.5000	
5.00	4		42.7500	42.7500
6.00	4		50.0000	50.0000
2.00	4			53.7500
3.00	4			60.5000
1.00	4			62.2500
4.00	4			68.7500
Sig.		.064	.067	.080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ตารางที่ ง.80 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเปอร์เซ็นต์การแทงราก (%RE) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์

ANOVA

Data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	22380.469	7	3197.210	14.870	.000
Within Groups	5160.250	24	215.010		
Total	27540.719	31			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
L	N	1	2	3
7.00	4	1.7500		
8.00	4		39.5000	
5.00	4			63.7500
2.00	4			72.0000
6.00	4			75.0000
1.00	4			79.0000
3.00	4			79.2500
4.00	4			86.5000
Sig.		1.000	1.000	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ตารางที่ ง.81 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติอัตราการเจริญของต้นกล้า (SGR) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	31.938	7	4.563	11.930	.000
Within Groups	9.178	24	.382		
Total	41.116	31			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
SGR	N	1	2	3	4
7.00	4	.0000			
6.00	4		1.3275		
8.00	4		1.8950	1.8950	
2.00	4			2.3825	
5.00	4			2.3850	
3.00	4			2.5450	
1.00	4			2.7675	2.7675
4.00	4				3.5600
Sig.		1.000	.207	.085	.082

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ตารางที่ ง.82 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติดัชนีการงอก (GI) ของพริกยักษ์สายพันธุ์แคลิฟอร์เนียวันเดอร์

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2695.259	7	385.037	2.098	.083
Within Groups	4405.453	24	183.561		
Total	7100.712	31			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
GI	N	1	2
7.00	4	1.4375	
8.00	4	12.2075	12.2075
5.00	4	20.5400	20.5400
6.00	4	21.5975	21.5975
2.00	4	22.8125	22.8125
3.00	4	23.5975	23.5975
1.00	4		27.9275
4.00	4		33.5525
Sig.		.050	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

ตารางที่ ง.83 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น (mm) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4.331	7	.619	5.044	.001
Within Groups	3.925	32	.123		
Total	8.256	39			

Duncan[a]

diameter	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
2.00	5	1.6960			
1.00	5	1.7840	1.7840		
3.00	5	2.0880	2.0880	2.0880	
4.00	5	2.1820	2.1820	2.1820	
8.00	5		2.2280	2.2280	
6.00	5		2.2760	2.2760	
7.00	5			2.3000	
5.00	5				2.8440
Sig.		.051	.054	.402	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.84 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติความสูงลำต้น (cm) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	255.586	7	36.512	8.224	.000
Within Groups	142.072	32	4.440		
Total	397.658	39			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
height	N	1	2	3	4
1.00	5	10.5900			
2.00	5	11.3240	11.3240		
3.00	5		13.6720	13.6720	
4.00	5			14.2280	
6.00	5			15.4500	
7.00	5			15.8120	
8.00	5			15.9080	
5.00	5				19.0140
Sig.		.586	.088	.143	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.85 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติน้ำหนักแห้ง (g) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.734	7	.105	7.857	.000
Within Groups	.427	32	.013		
Total	1.162	39			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05	
DW	N	1	2
2.00	5	.1260	
1.00	5	.1360	
3.00	5	.2140	
4.00	5	.2220	
6.00	5	.2480	
8.00	5	.2780	
7.00	5	.2860	
5.00	5		.5900
Sig.		.064	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.86 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติน้ำหนักสด (g) ของคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	56.115	7	8.016	5.692	.000
Within Groups	45.065	32	1.408		
Total	101.180	39			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
ww	N	1	2	3
1.00	5	1.9720		
2.00	5	2.0260		
3.00	5	2.8540	2.8540	
4.00	5	3.1220	3.1220	
6.00	5	3.5360	3.5360	
8.00	5		3.7340	
7.00	5		3.7860	
5.00	5			5.9780
Sig.		.070	.277	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.87 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า L* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	127.806	7	18.258	2.569	.032
Within Groups	227.433	32	7.107		
Total	355.239	39			

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05		
L	N	1	2	3
3.00	5	44.3780		
6.00	5	45.2500	45.2500	
2.00	5	45.5940	45.5940	
1.00	5	46.8440	46.8440	46.8440
8.00	5	47.5940	47.5940	47.5940
7.00	5		48.7000	48.7000
4.00	5		48.9740	48.9740
5.00	5			49.5660
Sig.		.097	.059	.159

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.88 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า a* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.767	7	.538	1.081	.398
Within Groups	15.934	32	.498		
Total	19.701	39			

Duncan[a]

a	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1.00	5	-6.8060
6.00	5	-6.5400
2.00	5	-6.5120
3.00	5	-6.3960
7.00	5	-6.3600
8.00	5	-6.1380
4.00	5	-5.9720
5.00	5	-5.8000
Sig.		.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ตารางที่ ง.89 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่า b* ของสีใบคะน้าสายพันธุ์ทวีโชค

ANOVA

data

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	72.650	7	10.379	1.419	.232
Within Groups	234.091	32	7.315		
Total	306.741	39			

Duncan[a]

b	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
5.00	5	7.3000	
4.00	5	7.5140	7.5140
8.00	5	7.9540	7.9540
6.00	5	8.9060	8.9060
3.00	5	9.2800	9.2800
2.00	5	9.8700	9.8700
7.00	5	10.1840	10.1840
1.00	5		11.4740
Sig.		.153	.051

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.000.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ – สกุล นางสาวผดาชไม สว่างอารมย์

วัน เดือน ปีเกิด 21 มีนาคม พ.ศ. 2529

ประวัติการศึกษา

ระดับมัธยมศึกษา ประโยคมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนกาญจนานุเคราะห์ พ.ศ. 2546

ระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยา
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี พ.ศ. 2550

ระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี พ.ศ. 2553

ทุนการศึกษา หรือทุนวิจัย ทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์

- Sawang-arom, P. and Suntornsuk, W., 2010, "Detoxification of *Jatropha curcas* seed cake by fungal submerged fermentation", **International Conference for a Sustainable Greater Mekong Subregion**, 26-27 August, 2010, Bangkok, Thailand.
- Sawang-arom, P. and Suntornsuk, W., 2011, "Fungal submerged fermentation on *Jatropha curcas* seed cake for its detoxification and production of plant growth promoter", **The 49th Kasetsart university annual conference**, 1-4 February, 2011, Bangkok, Thailand.

คณะวิทยาศาสตร์ มจธ.
เลขที่ 1177
วันที่ 1 ก.ค. 255
เวลา 11 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

ข้อตกลงว่าด้วยการโอนสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญาของนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา

วันที่ 6 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2554

ข้าพเจ้า นางสาวผกาชไม สว่างอารมย์ รหัสประจำตัว 51402208 เป็นนักศึกษาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ อยู่บ้านเลขที่ 74 หมู่ที่ 11 ตรอก/ซอย - ถนน - ตำบล/แขวง ปากแพรก อำเภอ/เขต เมือง จังหวัด ภาคจนบุรี รหัสไปรษณีย์ 71000 เป็น "ผู้โอน" ขอโอนสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญาให้กับมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี โดยมี ผศ.ดร.วรนุช เลิศสินธ์ชัย ตำแหน่ง คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ เป็นตัวแทน "ผู้รับโอน" สิทธิ์ในทรัพย์สินทางปัญญาและมีข้อตกลงดังนี้

1. ข้าพเจ้าได้จัดทำวิทยานิพนธ์ (เรื่อง)
   (ภาษาไทย) การหมักกากเมล็ดสบู่ดำเพื่อกำจัดสารพิษและผลิตโปรตีนสลัด สำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช
   (ภาษาอังกฤษ) Fungal fermentation of Jatropha curcas seed cake for its detoxification and production of protein hydrolysate for plant growth

ซึ่งอยู่ในความควบคุมของ รศ. ดร. วงพจน์ สุนทรสุข เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และ/หรือ promotic อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537 และถือว่าเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

2. ข้าพเจ้าตกลงโอนลิขสิทธิ์จากผลงานทั้งหมดที่เกิดขึ้นจากการสร้างสรรค์ของข้าพเจ้าในวิทยานิพนธ์ให้กับมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ตลอดอายุแห่งการคุ้มครองลิขสิทธิ์ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537 ตั้งแต่วันที่ได้รับอนุมัติโครงร่างวิทยานิพนธ์จากมหาวิทยาลัย

3. ในกรณีที่ข้าพเจ้าประสงค์จะนำวิทยานิพนธ์ไปใช้ในการเผยแพร่ในสื่อใดๆ ก็ตาม ข้าพเจ้าจะต้องระบุว่าวิทยานิพนธ์เป็นผลงานของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีทุก ๆ ครั้งที่มีการเผยแพร่

4. ในกรณีที่ข้าพเจ้าประสงค์จะนำวิทยานิพนธ์ไปเผยแพร่ หรือให้ผู้อื่นทำซ้ำหรือดัดแปลงหรือเผยแพร่ต่อสาธารณชนหรือกระทำการอื่นใด ตามพระราชบัญญัติลิขสิทธิ์ พ.ศ. 2537 โดยมีค่าตอบแทนในเชิงธุรกิจ ข้าพเจ้าจะกระทำได้เมื่อได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี

5. ในกรณีที่ข้าพเจ้าประสงค์จะนำข้อมูลจากวิทยานิพนธ์ไปประดิษฐ์หรือพัฒนาต่อยอดเป็นสิ่งประดิษฐ์หรืองานทรัพย์สินทางปัญญาประเภทอื่น ภายในระยะเวลาสิบ (10) ปี นับจากวันลงนามในข้อตกลงฉบับนี้ ข้าพเจ้าจะกระทำได้เมื่อได้รับความยินยอมเป็นลายลักษณ์อักษรจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีมีสิทธิในทรัพย์สินทางปัญญานั้น พร้อมกับได้รับชำระค่าตอบแทนการอนุญาตให้ใช้สิทธิดังกล่าว รวมถึงการจัดสรรผลประโยชน์อันพึงเกิดขึ้นจากส่วนใดส่วนหนึ่งหรือทั้งหมดของวิทยานิพนธ์ในอนาคต โดยให้เป็นไปตามระเบียบสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีว่าด้วย การบริหารผลประโยชน์อันเกิดจากทรัพย์สินทางปัญญา พ.ศ. 2538

6. ในกรณีที่มีผลประโยชน์เกิดขึ้นจากวิทยานิพนธ์หรืองานทรัพย์สินทางปัญญาอื่นที่ข้าพเจ้าทำขึ้นโดยมีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีเป็นเจ้าของ ข้าพเจ้าจะมีสิทธิได้รับการจัดสรรผลประโยชน์อันเกิดจากทรัพย์สินทางปัญญาดังกล่าวตามอัตราที่กำหนดไว้ในระเบียบสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรีว่าด้วย การบริหารผลประโยชน์อันเกิดจากทรัพย์สินทางปัญญา พ.ศ. 2538

ลงชื่อ.....ผกาชไม สว่างอารมย์..... ผู้โอนลิขสิทธิ์
(.....นางสาวผกาชไม สว่างอารมย์.....)
นักศึกษา

ลงชื่อ ..... ผู้รับโอนลิขสิทธิ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วรนุช เกิดสินธ์ชัย)

ลงชื่อ ..... พยาน
(.....รศ.ดร. วงพจน์ สุนทรสุข.....)
อาจารย์ที่ปรึกษา

ลงชื่อ..... พยาน
(รองศาสตราจารย์ ดร. สายพิณ ไชยนันทน์)
หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยา