จากการแยกแบคทีเรียสร้างสปอร์จากถั่วเน่าที่ผลิตใน 6 จังหวัดทางภาคเหนือของไทย พบว่ามีแบคทีเรียสร้างสปอร์จำนวน 129 ไอโซเลต จากนั้นนำแบคทีเรียสร้างสปอร์มาทดสอบความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ วิตามินบี 12 และสารต้านแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุโรคทางเดินอาหารในคน โดยวิธี drop collapse, microbiological assay และ agar well diffusion พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 9 ไอโซเลต สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ 4 ไอโซเลต สามารถผลิตวิตามินบี 12 และ 23 ไอโซเลต สามารถผลิตสารต้านแบคทีเรีย นอกจากนี้มีไอโซเลต B10, B18, B54, B56, B67, B82 และ B96 สามารถผลิตได้ทั้งสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ และสารต้านแบคทีเรีย และไอโซเลต B67, B15, B19 และ B96 มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารในคน 4 ชนิด คือ เชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella weltevreden* DMST 17375, *Bacillus cereus* TISTR 687 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 517 ด้วยความกว้างของการยับยั้งสูงสุดที่ 11.00, 17.38, 10.00 และ 15.75 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในจำนวนนี้มี 2 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารในคนได้ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ไอโซเลต B67 และ B96 นอกจากนี้ยังพบว่า 4 ไอโซเลต สามารถผลิตวิตามินบี 12 ได้ ซึ่งอยู่ในช่วงประมาณ 0.0123 - 0.0210 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นได้ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และทางชีวเคมีบางประการของแบคทีเรียสร้างสปอร์ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 3 ชนิด พบว่าเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis, B. brevis, B. circulans, B. firmus, B. pumilus* และ *B. megaterium* เมื่อนำแบคทีเรียจีนัส *Bacillus* ที่สามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมาศึกษาอัตราการเจริญเติบโตพร้อมกับหาปริมาณการผลิตวิตามินบี 12 ที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45°C เป็นเวลา 3 วัน พบว่าเชื้อ *B. circulans* (ไอโซเลต B19) มีการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ $1.15 \pm 0.13 \times 10^{24}$ CFU/g ที่อุณหภูมิ 35°C และพบว่า pH ของถั่วหมักมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างต่อเนื่องจากวันแรกของการหมัก เชื้อ *B. megaterium* (ไอโซเลต B39) มีการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ $8.15 \pm 0.07 \times 10^{22}$ CFU/g ที่อุณหภูมิ 35°C, pH 7.03 ± 0.02 ซึ่งสามารถผลิตวิตามินบี 12 ได้สูงสุดเท่ากับ 0.2427 ± 0.0047 นาโนกรัมต่อกรัม และเชื้อผสม (ไอโซเลต B18, B19, B39, B67, B112 และ B116) มีการเจริญเติบโตสูงสุดเท่ากับ $1.36 \pm 0.07 \times 10^{22}$ CFU/g ที่อุณหภูมิ 35°C, pH 6.06 ± 0.01 และสามารถผลิตวิตามินบี 12 ได้เท่ากับ 0.1983 ± 0.0004 นาโนกรัมต่อกรัม นอกจากนี้จากการสำรวจความชอบต่อคุณลักษณะต่าง ๆ ในผลิตภัณฑ์ถั่วเน่าทางสถิติ โดยเปรียบเทียบความพอใจทางด้านประสาทสัมผัสทั้ง 3 ด้าน คือ สี กลิ่น และรสชาติ พบว่าผู้ทดสอบพอใจในถั่วเน่าที่ผลิตขึ้นเอง ซึ่งมีเชื้อผสมเป็นเชื้อตั้งต้นในการหมัก ที่อุณหภูมิ 35°C มากที่สุด

Spore forming bacteria were isolated from "thua-nao" obtained from six provinces in northern Thailand. One hundred and twenty nine isolates were tested for their abilities to produce biosurfactants, vitamin B_{12} and antibacterial compounds against some colon bacterial pathogens in human. Based on drop collapse method, microbiological assay and agar well diffusion, it was found that 9 isolates produced biosurfactants, 4 isolates produced vitamin B_{12} and 23 isolates produced antibacterial compounds. There were some isolates capable of producing both biosurfactants and antibacterial compounds, i.e. B10, B18, B54, B56, B67, B82 and B96. Isolates B67, B15, B19 and B96 could inhibit the growth of four bacteria pathogens (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella weltevreden* DMST 17375, *Bacillus cereus* TISTR 687 and *Staphylococcus aureus* TISTR 517). The maximum inhibition zone for each pathogen was 11.00, 17.38, 10.00 and 15.75 mm., respectively. Among there, two isolates inhibited all of tested pathogens, i.e. B67 and B96. Four isolates (B12, B37, B39 and B98) showed that they could produce vitamin B_{12} ranging from 0.0123 - 0.0210 ng/ml. Morphological and biochemical tests indicated that all bacteria producing these bioactive compound were *Bacillus subtilis, B. brevis, B. circulans, B. firmus, B. pumilus* and *B. megaterium*. When studied the growth rate and vitamin B_{12} production of all bacteria in sterile soybeans at 25, 35 and 45°C, incubated for 3 days. It was found that the *B. circulans* (B19) had the maximum growth ($1.15 \pm 0.13 \times 10^{24}$ CFU/g) at 35°C, pH of fermented soybean was increased gradually. The maximum vitamin B_{12} production of *B. megaterium* (B39) was 0.2427 ± 0.0047 ng/g, when the total bacterial count was $8.15 \pm 0.07 \times 10^{22}$ CFU/g at 35°C, pH 7.03 ± 0.02. The mixed bacteria (B18, B19, B39, B67, B112 and B116) had bacterial population of $1.36 \pm 0.07 \times 10^{22}$ CFU/g at 35°C, pH 6.06 ± 0.01 and were able to produce vitamin B_{12} in fermented soybean (0.1983 ± 0.0004 ng/g). From statistical analysis, it was found that thua-nao at 35°C experiment was most favorable in terms of its odour, colour and taste.