รหัสโครงการ SUT3-305-54-24-05

รายงานการวิจัย

เทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก

(Starter culture (*Bacillus subtilis*) technology for fermented soybean product fermentation)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-54-24-05

รายงานการวิจัย

เทคโนโลยีการผลิตหัวเชื้อ (*Bacillus subtilis*) เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก

(Starter culture (*Bacillus subtilis*) technology for fermented soybean product fermentation)

คณะผู้วิจัย
หัวหน้าโครงการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554
ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว
กรกฎาคม 2558

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณผู้มอบทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งขอบคุณหน่วยงานอาคารเครื่องมือ 3 และ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการวิจัยทดลอง ตลอดจนศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นแหล่งให้ข้อมูลประกอบงานวิจัยและเอกสารอ้างอิงต่างๆ เพื่อจัดทำรายงานการวิจัยเล่มนี้ให้ลุล่วงสำเร็จไปได้ด้วยดี

ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก

กรกฎาคม 2558

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ(ภาษาไทย)

การหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และระยะเวลาในการหมัก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยรวมดีกว่าการหมักแบบธรรมชาติ เพื่อให้การควบคุมคุณภาพของการใช้กล้าเชื้อเป็นไปได้ง่าย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ในรูปผงเพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก ซึ่งใช้กรรมวิธีการอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray dried) และการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง (freeze dried) ในกระบวนการผลิตกล้าเชื้อในรูปแบบผงจะมีการควบคุมการผลิตในระบบด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ หลังผ่านกระบวนการผลิตสุดท้ายจะได้วิธีการที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 คือการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีสารตัวพาเป็น maltodextrin 20%w/v และ skim milk 50%w/v มีอัตราการอยู่รอดร้อยละ 74.24 และ 91.37 การทำแห้งโดยการระเหิดแห้งมีสารปกป้องจากความเย็นเป็น maltodextrin 10%w/v skim milk 40%w/v sucrose 10%w/v และ soybean flour 10 %w/v มีอัตราการอยู่รอดของ กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 84.24 89.02 84.60 และ 91.32 ตามลำดับคัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตกล้าเชื้อผงและความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อในการผลิตถั่วเหลืองหมักคือกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 จากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) คือกล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%w/v และกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour10%w/v วิเคราะห์คุณสมบัติของการเป็นกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 โดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตได้มาหมักถั่วเหลืองติดตามกระบวนการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และถั่วเหลืองหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการติดตามกระบวนการหมักได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมัก การผลิตเอนไซม์โปรติเอสและอะไมเลส พบว่า *B.subtilis* SB-MYP1 และ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour มีความสม่ำเสมอในระหว่างระยะเวลาการหมักและมีประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตเอนไซม์ที่ดี ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นกล้าเชื้อเพื่อการผลิตถั่วเหลืองหมัก เพื่อให้มีคุณค่าทางโภชนาการทางอาหารและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อติดตามการเก็บรักษากล้าเชื้อผงเป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยมีการเก็บในอะลูมิเนียมฟอยล์สภาวะปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour 10%w/v และ กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10%w/v พิจารณาปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้น และจำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่อยู่รอด พบว่ามีอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เทคโนโลยีในเพื่อให้กล้าเชื้ออยู่ในรูปที่สามารถใช้งานได้ง่าย และเป็นการเก็บรักษากล้าเชื้อให้อยู่ได้นานมากยิ่งขึ้น

Abstract

Soybean fermentation have been using *Bacillus subtilis* SB-MYP1, the potential starter culture which decreasing undesirable compounds and the length of fermentation , resulting the overall qualities of the product better than spontaneous fermentation. In order to control the product quality, this research therefore aims to produce the *B.subtilis* SB-MYP1 powder for using in fermentation by means of spray drying method and freeze drying based on aseptic technique. Spray dried *B. subtilis* SB-MYP1 powder with 20 % (w/v) maltodextrin and 50 % (w/v) skim milk was selected as the suiable method shown the survival rate at 74.24 and 91.37 respectively. For the freeze dried *B. subtilis* SB-MYP1 powder with 10 % (w/v) maltodextrin, 40 % (w/v) skim milk, 10 % (w/v) sucrose and 10 % (w/v) soybean flour showed the survival rate at 84.24, 89.02, 84.60 and 91.32 respectively. Then, freeze dried starter culture with 10 % (w/v) maltodextrin and 10 % (w/v) soybean flour were further selected for approve of its starter culture properties in nutrient broth and solid state soybean fermentation within 0-72 hours. The fermentation factors to be monitored were fermentation time, amylase and protease enzymes activity. A fresh culture form and freeze dried culture with soybean flour form be stable and possible to use as a starter culture for fermented soybean production providing the nutritional value and consumer acceptability. As a shelf life analysis result of freeze-dried *B. subtilis* SB-MYP1 powder shelf life in aseptic aluminum foil at 25 ^{o}C, when considering the decreasing moisture content and the survival number, provided at least possible 3 months. It is suggested that using preservation technology is helpful for extending starter culture shelf life and easily handling.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูปภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
ขอบเขตของการวิจัย	2
ข้อตกลงเบื้องต้น	3
ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	
แหล่งที่มาของข้อมูล	4
วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล	6
วิธีวิเคราะห์ข้อมูล	7
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
อภิปรายผล	9
บทที่ 4 บทสรุป	
สรุปผลการวิจัย	23
ข้อเสนอแนะ	24
บรรณานุกรม	25
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	29
ภาคผนวก ข	32
ประวัติผู้วิจัย	36

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณความชื้นและการอยู่รอดของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drier)	10
ตารางที่ 2 ปริมาณความชื้นและการอยู่รอดของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier)	12
ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) ตั้งแต่ 0-72 ชั่วโมง	14
ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ในถั่วเหลืองหมักตั้งแต่ 0-72 ชั่วโมง	15
ตารางที่ 5 แสดงจำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	16
ตารางที่ 6 แสดงจำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เจริญบนถั่วเหลืองหมัก ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	17
ตารางที่ 7 แสดง relative activity ของเอนไซม์อะไมเลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient Broth ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	19
ตารางที่ 8 แสดง relative activity ของเอนไซม์อะไมเลสในการหมักถั่วเหลือง ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	19
ตารางที่ 9 แสดง relative activity ของเอนไซม์โปรติเอสในอาหารเลี้ยงเชื้อ nutrient Broth ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	20
ตารางที่ 10 แสดง relative activity ของเอนไซม์โปรติเอสในการหมักถั่วเหลือง ในระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง	20
ตารางที่ 11 ปริมาณความชื้นของกล้าเชื้อผงที่เปลี่ยนแปลงไปในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน	22
ตารางที่ 12 จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เปลี่ยนแปลงไปในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน	22

สารบัญภาพ

หน้า

รูปที่ 1 เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย Buchi Mini Spray Dryer รุ่น B-191 33
รูปที่ 2 เครื่อง freez dryer ยี่ห้อ GEA LyophilLyovac® GT 2 34

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักผลิตได้จากการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*) เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงเหมาะแก่การแก้ปัญหาทุพโภชนาการ และจากปัญหาโรคโลหิตจางที่มีสาเหตุมาจากการขาดธาตุเหล็ก ทำให้ผู้ป่วยมีการพัฒนาด้านต่างๆ ของร่างกายช้ากว่าคนปกติ การพัฒนาด้านสติปัญญา การเรียนรู้ ประสิทธิภาพในการทำงานตลอดจนด้านภูมิคุ้มกันโรคต่ำลง ทั้งนี้เพราะในเมล็ดถั่วเหลืองยังอุดมไปด้วยธาตุเหล็ก (Tajima, 2003)แต่อย่างไรก็ตามยังไม่เป็นที่นิยมมากนัก เนื่องจากการผลิตแบบพื้นบ้าน ซึ่งกระบวนการหมักเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์โดยธรรมชาติ ไม่มีการควบคุมสภาวะการหมัก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไม่สม่ำเสมอ (Visessanguan, 2005) และยังประสบปัญหาในการยอมรับของผู้บริโภค การควบคุมคุณภาพโดยการใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก จากงานวิจัยของ ปิยะวรรณ กาสลัก และรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 2554 มีการคัดแยก *B.subtilis* SB-MYP1 จากการหมักถั่วเหลืองซึ่ง *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่ได้เป็นแกรมบวก มีรูปร่างแท่ง สามารถผลิตเอนไซม์ amylase และ proteinase เจริญได้ดีในสภาวะ aerobic ที่ อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง pH 5.7 มีคุณสมบัติในการการผลิตสารยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (antimicrobial) และมีการพัฒนาวิธีการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่มีคุณสมบัติในการช่วยลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของถั่วเหลืองหมัก จากคุณสมบัติของกล้าเชื้อนี้ถือเป็นความสำเร็จในการพัฒนาคุณภาพของถั่วเหลืองหมักให้ดียิ่งขึ้นที่อยู่ในรูปที่สามารถนำมาใช้ได้ง่ายและสะดวก เป็นอีกทางเลือกหนึ่งของผู้บริโภค ในปัจจุบันการผลิตหัวเชื้อผงส่วนใหญ่จะใช้วิธี freeze-drying เนื่องจากเป็นกระบวนการทำแห้งภายใต้สภาวะอุณหภูมิและความดันต่ำ จึงช่วยให้ผลิตภัณฑ์คงคุณค่าทางโภชนาการ เนื้อสัมผัส สี กลิ่น และรสชาติ ได้ใกล้เคียงกับของสด ผลิตภัณฑ์ที่นิยมนำมาทำแห้งแบบเยือกแข็ง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง เช่น อาหารเครื่องสำอาง ยาและผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์เพราะให้อัตราการรอดชีวิตสูงอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ได้แก่การใช้เทคโนโลยีการอบแห้งแบบพ่นฝอย ซึ่งนิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ เริ่มตั้งแต่อุตสาหกรรมเซรามิกส์ การผลิตผงซักฟอก การผลิตสีย้อมผ้าและรงควัตถุและยังประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การผลิตส่วนผสมอาหาร ในกระบวนการผลิตส่วนผสมของอาหารกว่าครึ่งหนึ่งได้มาจากกระบวนการทำแห้งอาหาร ส่วนผสมของอาหารส่วนใหญ่เป็นอาหารจำพวกที่ไวต่อความร้อน ดังนั้นเทคนิคในการทำแห้งจึงกลายเป็นสิ่งสำคัญต่อการแปรรูปอาหารจำพวกนี้ อย่างไรก็ตามในการเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมที่สุดต้องพิจารณาปัจจัยหลายอย่างเช่น อาหารที่ไวต่อความร้อนต้องการกระบวนการอบแห้งที่ทำให้ยังคงคุณภาพอยู่ในขณะที่ใช้อุณหภูมิในการอบแห้งสูงในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้กระบวนการ

อบแห้งแบบพ่นฝอยกันอย่างกว้างขวางในการแปรรูปอาหารเหลวเป็นอาหารผงเช่น ผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้ กาแฟ ผัก ไข่ เนื้อ แป้ง และอื่นๆ อีกมากมาย เนื่องจากกระบวนการอบแห้งแบบพ่นฝอยมีข้อดีในเรื่องของกระบวนการผลิต การบรรจุ และการเตรียมวัตถุดิบที่ดีกว่า ดังนั้นผู้บริโภคจึงเลือกใช้กระบวนการนี้ในการแปรรูปอาหารในอุตสาหกรรม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นการหากระบวนการและตัวกลางที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อผงที่ให้อัตราการรอดชีวิตสูง ผลจากงานวิจัยนี้จะก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่ที่เป็นประโยชน์ในการผลิตหัวเชื้อผงซึ่งสามารถพัฒนาและนำไปสู่กระบวนการผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อเลือก carrier ที่เหมาะสมสำหรับกล้าเชื้อ
2. ศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อเพื่อนำไปใช้ในการหมักถั่ว

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. นำกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 มาศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตหัวเชื้อเริ่มต้นโดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร NB และ NA นำเชื้อไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เวลา 18 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บเกี่ยวเซลล์ โดยการ centrifuge ที่ 10000 g เป็นเวลา 15 นาที ล้างเซลล์ที่ได้ด้วยน้ำเกลือเข้มข้น 0.85%w/v ทำ suspension เชื้อให้ได้ความเข้มข้นของเซลล์ ที่ $10^{9\text{-}10}$CFU/ml จากนั้นนำมาศึกษาการเตรียมหัวเชื้อด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้ การทำแห้งโดยวิธี freeze drier การทำแห้งโดยวิธี spray drier จะใช้ carrier และcryoprotectant จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ maltodextrin, sucrose, skim milk และ soybean flour
2. ศึกษาการอยู่รอดของจำนวนเซลล์ก่อนและหลังการเตรียมหัวเชื้อวิธีต่างๆ
3. ศึกษาคุณสมบัติของเชื้อภายหลังการเตรียมหัวเชื้อวิธีต่างๆ
4. ศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ข้อตกลงเบื้องต้น

ไม่มี

ประโยชน์ที่ได้รับจากการวิจัย

เพื่อนำผลงานวิจัยที่ได้ไปใช้ประโยชน์ในการถ่ายทอดอบรมให้ความรู้ต่อผู้บริโภค และชุมชนท้องถิ่นให้ตระหนักถึงความสำคัญของเทคโนโลยีการผลิต และประโยชน์ที่ได้จากการบริโภคถั่วหมักเพื่อเสริมสุขภาพร่างกายให้ดีขึ้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ถั่วหมักมีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้นเมื่อผ่านการหมักโดยการควบคุมสภาวะกระบวนการหมักเพื่อทำให้ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักมีคุณภาพและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

<u>หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์</u>

กลุ่มผู้ผลิต จำหน่าย และผู้บริโภคที่สนใจเรื่องการดูแลสุขภาพและหน่วยงานของรัฐและเอกชนที่เกี่ยวข้องเช่น องค์การบริหารส่วนท้องถิ่น

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทที่ 2
วิธีการดำเนินงานวิจัย

แหล่งที่มาของข้อมูล

การผลิตกล้าเชื้อแบบผงเชื้อจุลินทรีย์จะต้องผ่านกรรมวิธีในการผลิตที่มีอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้อง เชื้ออาจถูกทำลายโดยอุณหภูมิที่นำมาใช้ ซึ่งจะมีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อลดลง จึงต้องมีการป้องกันไม่ให้เซลล์ได้รับอันตราย โดยมีการเติมสารบางชนิดซึ่งมีผลช่วยให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้น (ภัทรียา, 2541) สารปกป้องเซลล์หรือสารที่ใช้เคลือบเซลล์จะป้องกันความร้อนหรือความเย็น (cryoprotectants) ที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการทำแห้ง ซึ่งจะช่วยลดการถูกทำลายของเซลล์ และช่วยเพิ่มการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้ง รวมถึงในการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ เซลล์ที่มีชีวิตจะมีจำนวนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับเซลล์ที่ได้รับความเสียหายบางส่วน (sub-lethal damage) ซึ่งอาจกลายเป็นเซลล์ตาย (lethal form) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยกระบวนการขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำ ออกซิเจนและอุณหภูมิ (Simpson et al., 2005) ไม่เพียงแต่เยื่อหุ้มเซลล์เท่านั้นที่ไวต่อความร้อนในระหว่างการทำแห้ง สารประกอบที่นิยมใช้เป็นสารปกป้องเซลล์ ได้แก่ นมพร่องไขมัน น้ำตาลซูโครส กลีเซอรอลโซเดียมกลูตาเมตหรือส่วนผสมของน้ำตาลกลูโคสกับซีรั่ม (Hubalek, 2003) มอลโตเดกตริน (Namaldi et al., 2012) alginate starch bentonite (Wu et al., 2012) และ $MgSO_4$ เป็น matrix ร่วมกับ Biocontrol (Yanez-Mendizabal et al., 2012) นอกจากนี้สารปกป้องเซลล์ต้องสามารถป้องกันเซลล์จากผลทางกายภาพ ระหว่างที่สภาวะสภาพแวดล้อมของกระบวนการเปลี่ยนแปลงไป กล่าวคือในกระบวนการทำแห้งมีการกำจัดน้ำออกนอกเซลล์ ซึ่งน้ำเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่สำคัญภายในเซลล์ โดยปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ดังนี้ (1) ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ (type of organism) ขนาดและองค์ประกอบของเชื้อจุลินทรีย์มีผลต่อการรอดชีวิต สปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์จะมีความสามารถในการต้านทานความแห้ง จึงมีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อผ่านกรรมวิธีการทำแห้ง จุลินทรีย์ชนิดแกรมบวกจะมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าจุลินทรีย์ชนิดแกรมลบ เพราะเนื่องจากไขมันที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์จะช่วยในการคงสภาพของเซลล์ให้คงอยู่ได้ดีกว่า และเซลล์ที่มีอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเซลล์น้อย (2) อายุของเชื้อจุลินทรีย์ (physiological age) เซลล์จุลินทรีย์ที่มีอายุอยู่ในช่วงระยะการเจริญเริ่มเข้าสู่ระยะคงที่ (stationary phase) จะมีอัตราการมีชีวิตรอดสูงกว่าเชื้อที่อยู่ในช่วงระยะเติบโตแบบทวีคูณ (exponential phase) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตอย่างสมบูรณ์ (3) ความเข้มข้นของเซลล์ (cell concentration) ปริมาณเริ่มต้นของเซลล์มีผลต่ออัตราการรอดชีวิต โดยที่อัตราการรอดชีวิตจะมีสูงขึ้นเมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการแช่แข็งแห้ง (Morgan et al., 2006)

กล้าเชื้อ *B. Subtilis* มีบทบาทสำคัญในการทำผลิตภัณฑ์ถั่วหมักเป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มแกรมบวก รูปแท่ง มี flagella แบบ peritrichousเจริญได้ดีที่ pH 5.5-8.5 ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobes) หรือ มีอากาศเล็กน้อย (facultative anaerobes) สร้าง catalase มี endospore ที่ทำให้มีคุณสมบัติในการทนต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่ดีได้ ไม่ก่อให้เกิดโรค สร้าง hydrolytic enzyme ที่ย่อยสลาย polysaccharide, nucleic acid และ lipid โดยใช้สารดังกล่าวเป็นแหล่งคาร์บอน และตัวให้อิเล็กตรอนมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน บทบาทสำคัญของเชื้อตัวนี้ในการหมักคือการปล่อยเอนไซม์โปรติเอส และอะไมเลสออกมาย่อยโปรตีนทำให้ช่วยปรับปรุงองค์ประกอบที่ย่อยได้ยากให้อยู่ในรูปที่ย่อยได้ง่าย และเป็นประโยชน์มากขึ้น (Feng และคณะ, 2007) นอกจากนี้ *B. subtilis* ยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Aspergillus* และสารพิษได้อีกด้วย (Petchkongkaew และคณะ, 2008)

วิธีการเก็บรวบรวมข้อมูล

ตอนที่ 1 การหาสภาวะที่เหมาะสมเพื่อการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1

1.การเตรียม carrier สำหรับการผลิตด้วย spray drier

เตรียม carrier ความเข้มข้นต่างๆ ตามวิธีการของ Application Buchi Mini Spray Dryer รุ่น B-191 เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการะบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยเตรียมสารละลาย maltodextrin 10,15, 20%w/v soybean flour 10,15, 20%w/v Skim milk 40,45,50%w/vและ sucrose 10,15,20%w/v นำ *B.subtilis* SB-MYP1 เติมลงในสารละลายของ carrier ชนิดต่างๆซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 10^{12} เซลล์ต่อมิลลิลิตร

2.การเตรียม cryoprotectant สำหรับการผลิตด้วย freeze drier

เตรียม cryoprotectant ที่ความเข้มข้นต่างๆเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยเตรียมสารละลาย maltodextrin 10,15,20%w/v soybean flour10,15,20%w/v sucrose 10,15,20%w/v และskim milk 40,45,50%w/v นำ *B.subtilis* SB-MYP1 เติมลงในสารละลายชนิดต่างๆซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 1.2× 10^{9} เซลล์ต่อมิลลิลิตรนำสารละลายตัวอย่างไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

3.การเตรียมกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1

นำ *B.subtilis* SB-MYP1 สายพันธุ์ที่มีศักยภาพสูงจากการคัดเลือกเบื้องต้นมาเลี้ยงบนอาหาร nutriunt broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปตเชื้อ *B.subtilis* SB-

MYP1 ปริมาตร 0.1 ml ลงในอาหาร nutrient broth ปริมาตร 100 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 180 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง แล้วนำตะกอนเซลล์มาทำ suspension ด้วยการเติม 0.85%w/v NaCl ปลอดเชื้อแล้วเจือจางเทียบความขุ่นเท่ากับ McFarland No.4 (จำนวนเซลล์ประมาณ 1.2×10^{9}cfu/ml)นำ suspension ของ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เทียบความขุ่นเท่ากับ McFarland No.4 มาตรวจนับจำนวนโคโลนี โดยเจือจางด้วย 0.85%w/v NaClนำเชื้อเจือจางที่ระดับ 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}และ 10^{-8}มา Spread บนอาหาร plate count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4.การทำแห้งแบบพ่นฝอย

ทำการอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้เครื่อง BUCHI Mini spray dryer B-191 กำหนดค่าอุณหภูมิขาเข้า (Inlet) 80, 90 และ 100 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างผงเชื้อแล้วบรรจุผงเชื้อที่ได้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์แบบสุญญากาศ

5.การทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง

ทำแห้งโดยใช้เครื่อง freez dryer กำหนดค่าอุณหภูมิเป็น 35 องศาเซลเซียส ความดัน$1.0E^{-3}$ mbar เวลา 48 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างผงเชื้อแล้วบรรจุผงเชื้อที่ได้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์แบบสุญญากาศ

6.**การวิเคราะห์หาค่าความชื้น**

นำตัวอย่างกล้าเชื้อผงที่ผลิตได้ประมาณ 1 กรัมทำการวัดค่าความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้น รุ่น Precisa HA 300

7.การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (FDA-BAM (2001)

เก็บตัวอย่างหัวเชื้อผง 25 กรัม ผสมกับ peptone water 0.1 %w/v ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ใน stomacher bag ตีบดด้วยเครื่อง stomacher โดยใช้ความเร็วรอบระดับปานกลางเป็นเวลา 30 วินาทีได้ตัวอย่างหัวเชื้อผงที่มีความเจือจางในระดับ 10^{-1} และทำการเจือจางเป็นลำดับ จนได้ระดับความเจือจางประมาณ 10^{-6} ปิเปตตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารวุ้น PCA เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้เทคนิค spread plate ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Survival (%) = (100 × N/N0)

N = จำนวนแบคทีเรีย/มล. (cfu/ml) หลังผ่านProcess

N0 = จำนวนแบคทีเรีย/มล. (cfu/ml) ก่อนผ่าน Process

ตอนที่ 2 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตได้จากกระบวนการทำแห้ง

1. การเตรียมกล้าเชื้อ *B.subtillis* SB-MYP1

นำ *B. subtilis* SB-MYP1 ไป steak บนอาหาร nutrient agar (NA) นำไปบ่มที่37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เก็บโคโลนีเดี่ยวไปใส่ในอาหาร NB ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่โดยใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ นำไปบ่มและ เขย่าที่ 180 รอบ/นาที ณ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดจึงนำไป centrifuge ที่ 10000g อุณหภูมิ 4 องศา นาน 15 นาที จากนั้นเอาส่วนที่ตกตะกอนเจือจางด้วยโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 0.85%w/v เทียบความขุ่นกับ McFarland No.1 (3.0 x 108 cfu/ml)

2. การเตรียมถั่วเหลือง และการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1

ล้างถั่วเหลืองด้วยน้ำสะอาด จากนั้นแช่น้ำทิ้งไว้ประมาณ 12 ชั่วโมง นำถั่วเหลืองไปให้ความร้อน ด้วยหม้อนึ่งความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เติมกล้าเชื้อ *B. subtilis* SB-MYP1 และกล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ในรูปผงด้วย soybean flour และ maltodextrin ให้มีจำนวนเซลล์เริ่มต้น ประมาณ 10^{-6} cfu/g นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจนับจำนวน *B.subtilis* SB-MYP1,วัดค่าความเป็นกรดด่าง,หาปริมาณเอนไซม์ อะไมเลส และ โปรติเอส ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ทุกๆ12 ชั่วโมง จนครบ 72 ชั่วโมง

3.การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์อะไมเลส

เตรียมหลอดทดลองที่มี DNS reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตรและพักไว้ เตรียม reaction mixture tube โดยแต่ละหลอดเติมน้ำแป้ง 2%w/v ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และ 0.1M phosphate buffer (pH 6.0) 1 มิลลิลิตร แต่ละหลอดเติมเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตรและหลอดที่เป็น blank ใช้น้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ตั้งหลอด reaction mixture ไว้ใน water bath อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปิเปต reaction mixture จากแต่ละหลอดปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มี DNS reagent ที่เตรียมไว้ ตั้งหลอดทิ้งไว้ใน water bath อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาทีปิดปากหลอดหลังจากครบ 5 นาทีทำให้เย็นลงด้วยน้ำแข็งเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงไปในแต่ละหลอด นำไปวัดค่า OD ที่ 540 นาโนเมตรด้วยเครื่อง spectrophotometer

4. การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โปรติเอส

เก็บตัวอย่างถั่วหมักที่บ่มเป็นระยะเวลา 12, 24,36, 48,60 และ 72 ชั่วโมง นำมาชั่งให้ได้ 10 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาตร 90 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกเชื้อที่ความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที ดูดเอาส่วนใสไปทดสอบโดยวิธี azocasein (Huang, 2006) นำเอาส่วนใสมา 100 µl ผสมกับ azocasein 2 %w/v ละลายใน Tris-HCl buffer pH 7.2 ปริมาตร 400 µl จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที และหยุดปฏิกิริยาด้วย 10%w/v trichlroacetic acid (TCA) ปริมาตร 1 ml ทิ้งให้ตกตะกอนเป็นเวลา 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที ดูดเอาส่วนใสที่ได้ปริมาตร 1 ml ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 440 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer และกำหนดค่าให้ unit enzyme ของโปรติเอสมีค่าเท่ากับค่าดูดกลืนแสงที่ 0.01 ที่ 440 nm

ตอนที่ 3 หาอายุการเก็บรักษาของกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1

1.การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ *B.subtilis* SB-MYP1 **(FDA-BAM (2001)**

ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ผสมกับ 0.1 เปอร์เซ็นต์ peptone water ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ใน stomacher bag ตีบดด้วยเครื่อง stomacher โดยใช้ความเร็วรอบระดับปานกลางเป็นเวลา 30 วินาที ได้ตัวอย่างที่มีความเจือจางในระดับ 10^{-1} และทำการเจือจางเป็นลำดับ จนได้ระดับความเจือจางประมาณ 10^{-6} ปิเปตตัวอย่างจากแต่ละระดับความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ลงบนจานอาหารวุ้น MYP เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารโดยใช้เทคนิค spread plate ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.**การวิเคราะห์หาค่าความชื้น**

นำตัวอย่างกล้าเชื้อผงประมาณ 1 กรัม ทำการวัดค่าความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้น รุ่น Precisa HA 300

บทที่ 3

ผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1

1.1 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drier)**

ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1ด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) ยี่ห้อ Buchi Mini Spray Dryer รุ่น B-191 โดยใช้ maltodextrin, soybean flour, sucrose และ skim milk เป็นสารตัวพา โดยเตรียมสารละลายของสารทั้ง 4 ชนิด ดังนี้ maltodextrin 10,15,20%w/v soybean flour10,15,20%w/v และ skim milk 40,45 50%w/v sucrose 10,15,20%w/v นำสารละลายดังกล่าวไปฆ่าเชื้อด้วย autoclave แล้วเติมกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ลงในสารละลายแล้วนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งโดยเทคนิคปลอดเชื้อ พบว่าการทำแห้งด้วย spray dryer ด้วย maltodextrin 20%w/v ที่อุณหภูมิขาเข้า 80 90 และ100 องศาเซลเซียส กล้าเชื้อผงที่ได้มีปริมาณความชื้น 6.56 4.53 และ 4.47 ตามลำดับ โดยลักษณะของกล้าเชื้อผงที่ได้มีสีขาว แห้งเป็นผงละเอียดและอัตราการอยู่รอดของ *B.subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 74.24 71.42 และ 69.02 ตามลำดับ การผลิตกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย skim milk 50%w/v พบว่าที่อุณหภูมิ 80 90 และ100 องศาเซลเซียสมีปริมาณความชื้น 9.35 6.38 7.00 ตามลำดับ ลักษณะของกล้าเชื้อผงที่ได้มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาวอมเหลือง และมีอัตราการอยู่รอดของ *B.subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 84.60 91.37 และ 84.30 ตามลำดับทั้งนี้มีการสูญเสียของสารค่อนข้างมาก ทำให้ได้ปริมาณของผงผลิตภัณฑ์ในปริมาณน้อย และในสภาวะดังกล่าวเมื่อปรับอุณหภูมิและอัตราการ feed ตัวอย่างแล้วพบว่าไม่สามารถผลิตกล้าเชื้อผงด้วย sucrose และ soybean flour ได้ ซึ่งสารทั้งสองชนิดเมื่อผ่านการป้อนเข้าไปใน spray drier แล้วจะไปติดอยู่กับส่วนประกอบต่างๆ ของเครื่อง กล่าวคือผงผลิตภัณฑ์ไม่ตกลงสู่ด้านล่างของ drying chamber

ตารางที่ 1 ปริมาณความชื้นและการอยู่รอดของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)

ชนิดของตัวพา	อุณหภูมิขาเข้า	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	P-value	ร้อยละการอยู่รอด	P-value
20 %w/v maltodextrin	80	6.56[c]	0.00	74.24[c]	0.00
	90	4.53[e]		71.42[c]	
	100	4.47[e]		69.02[d]	
50 %w/v skim milk	80	9.35[a]		84.60[b]	
	90	6.38[d]		91.37[a]	
	100	7.00[b]		84.30[b]	

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.2 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier)**

ผลการศึกษาการผลิตหัวเชื้อผงด้วยเครื่อง freeze drier โดยใช้สารปกป้องจากความเย็น (cryoprotectant) ทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ maltodextrin 10,15, 20 %w/v soybean flour 10,15,20%w/v sucrose 10,15,20%w/v และ Skim milk 40,45,50 %w/vนำสารละลายดังกล่าวไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave แล้วเติมกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ลงในสารละลายแล้วนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาทำแห้งโดยใช้เครื่อง Freeze Dryer ยี่ห้อ GEA LyophilLyovac® GT 2 กำหนดค่าอุณหภูมิเป็น 35 องศาเซลเซียสความดัน1.0E+3 mbar เป็นเวลา 48 ชั่วโมงพบว่า cryoprotectant ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกล้าเชื้อผงได้แก่ maltodextrin10%w/v skim milk 40%w/v sucrose 10%w/v และsoybean flour 10 %w/v มีคุณลักษณะของการเป็นกล้าเชื้อผงที่ดีโดยผงของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณความชื้นร้อยละ 6.56 4.17 7.00 และ 6.18 มีอัตราการอยู่รอดของ *B.subtilis* SB-MYP1ร้อยละ 84.24 89.02 84.60 และ 91.37 ตามลำดับลักษณะของผงผลิตภัณฑ์ที่ได้จะแตกต่างจากการผลิตด้วย spray dryer คือ จะมีการเกาะตัวกันของผงผลิตภัณฑ์เป็นก้อนใน maltodextrin skim milk sucrose และแผ่นบางๆใน soybean flour โดยเฉพาะกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย sucrose จะมีการดูดซับความชื้นในอากาศอย่างรวดเร็วทำให้เกิดการรวมตัวเกาะกันเป็นก้อนมีความชื้นสูงไม่เหมาะสมสำหรับการผลิตเป็นกล้าเชื้อผงเท่าที่ควรทั้งนี้จะทำการคัดเลือกกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ที่มีความเหมาะสมเพียง 2 ตัวอย่างที่จะนำไปวิเคราะห์ติดตามกระบวนการหมักและหาอัตราการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาได้แก่ กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%w/v และ กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%w/v

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 2 ปริมาณความชื้นและการอยู่รอดของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier)

ชนิดของตัวพา (w/v)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	P-value	ร้อยละการอยู่รอด	P-value
10%maltodextrin	6.56[b]	0.00	84.24[b]	0.00
15%maltodextrin	4.53[a]		71.42[c]	
20%maltodextrin	4.67[e]		67.14	
40%skim milk	4.47[e]		89.02[a]	
45%skim milk	5.64[d]		85.23[b]	
50%skim milk	5.82[d]		87.78[a]	
10%sucrose	7.00[b]		84.60[b]	
15%sucrose	7.99[a]		66.44[d]	
20%sucrose	8.23[a]		65.32[d]	
10%soybean flour	6.18[c]		91.37[a]	
15%soybean flour	6.25[c]		84.30[b]	
20%soybean flour	6.14[c]		87.19[a]	

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตอนที่ 2 การใช้กล้าเชื้อผงที่ผลิตได้มาหมักถั่วเหลืองเพื่อวิเคราะห์คุณสมบัติของการเป็นกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1

2.1 ผลการเปรียบเทียบการเจริญของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) และถั่วเหลืองหมัก

จากผลการศึกษาการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อผงที่ผลิตได้จากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) ที่มี soybean flour 10%w/v และ maltodextrin 10%w/v เป็นสารปกป้องจากความเย็น (cryoprotectant) โดยติดตามกระบวนการหมักทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการวิเคราะห์ติดตามกระบวนการเกิดการหมักถั่วเหลืองคือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 การวิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างคุณสมบัติของกล้าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) และกล้าเชื้อที่เจริญระหว่างการหมักถั่วเหลือง ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวพบว่าการเจริญของกล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 ส่วนการเจริญของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10%w/v และกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour 10%w/v สูงสุดในชั่วโมงที่ 72 และในกระบวนการหมักโดยใช้กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%w/v มีความสม่ำเสมอเช่นเดียวกับการหมักโดยใช้กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 ในขณะที่การหมักโดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10%w/v ไม่มีความสม่ำเสมอซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 อยู่ในสภาวะที่ถูกห่อหุ้มด้วย maltodextrin และsoybean flour จะมีอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ช้ากว่ากล้าเชื้อสดที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทำแห้ง เนื่องจากในกระบวนการหมักของกล้าเชื้อเมื่อทำการเติมเชื้อ (inoculum) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือวัตถุดิบแล้วกล้าเชื้อสดจะมีการเจริญตามปกติแต่กล้าเชื้อที่ถูกห่อหุ้มจะมีระยะเวลาในการปลดปล่อยเซลล์และการเจริญที่ใช้เวลามากกว่า ทั้งนี้ถึงแม้ว่าจะการหมักที่ใช้กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%w/v จะใช้เวลานานกว่า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอเช่นเดียวกันกับการใช้กล้าเชื้อสด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) ตั้งแต่ 0-72 ชั่วโมง

ชนิดของกล้าเชื้อ	ระยะเวลาในการหมัก (ชั่วโมง)						
	0	12	24	36	48	60	72
กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	6.153 ± 0.001[b]	6.470±0.001[a]	6.667±0.001[c]	8.100± 0.001[b]	7.970 ± 0.003[b]	7.937 ± 0.003[b]	7.993 ± 0.001[b]
กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1ด้วย maltodextrin 10%w/v	6.353 ±0.001[a]	6.140 ±0.001[b]	7.267 ±0.001[a]	8.300±0.001[a]	8.217 ±0.001[a]	7.867 ±0.003[c]	8.100 ±0.003[b]
กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1ด้วย Soybean flour 10%w/v	6.360 ±0.001[a]	6.457 ±0.001[a]	7.047 ±0.001[b]	8.060 ±0.001[b]	8.090 ±0.001[b]	8.067 ±0.001[a]	8.243 ±0.001[a]
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ในการหมักถั่วเหลืองตั้งแต่ 0-72 ชั่วโมง

ชนิดของกล้าเชื้อ	ระยะเวลาในการหมัก(ชั่วโมง)						
	0	12	24	36	48	60	72
กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	6.180 ± 0.001^{c}	6.623 ±0.001^{b}	7.330 ±0.001^{a}	8.067 ± 0.001^{b}	7.993 ± 0.003^{a}	7.410 ± 0.003^{c}	7.920 ± 0.001^{c}
กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1ด้วย maltodextrin 10%w/v	6.373 ±0.001^{b}	6.353 ±0.001^{c}	6.607 ±0.001^{b}	8.110 ±0.001^{b}	7.953 ±0.001^{a}	7.930 ±0.003^{b}	8.120±0.003^{b}
กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1ด้วย Soybean flour 10%w/v	6.653 ±0.001^{a}	6.760 ±0.001^{a}	6.045 ±0.001^{c}	8.687 ±0.001^{a}	8.614 ±0.001^{b}	8.661 ±0.001^{a}	8.695 ±0.001^{a}
P-value	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 5 จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) ระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	**จำนวนเชื้อจุลินทรีย์log cfu/g**			P-value
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin 10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย soybean flour 10%w/v**	
0	5.33^{f}	3.85^{g}	4.72^{f}	0.00
12	8.52^{d}	8.19^{e}	7.97^{e}	
24	9.71^{c}	8.97^{d}	9.00^{d}	
36	13.62^{a}	8.83^{d}	9.42^{c}	
48	9.27^{c}	9.32^{c}	9.56^{c}	
60	7.98^{e}	9.11^{c}	9.27^{c}	
72	7.35^{e}	11.19^{b}	11.42^{b}	

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 6 จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เจริญในการหมักถั่วเหลืองระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ log cfu/g			P-value
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin 10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วยsoybean flour 10%w/v**	
0	4.08^{h}	4.00^{h}	5.00^{g}	0.00
12	7.98^{f}	7.84^{f}	8.60^{e}	
24	8.35^{e}	8.52^{e}	9.11^{d}	
36	11.99^{a}	9.34^{d}	9.06^{d}	
48	10.48^{b}	9.62^{c}	8.45^{e}	
60	9.99^{b}	9.72^{c}	9.64^{c}	
72	9.42^{d}	11.29^{a}	11.01^{a}	

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2.2ผลของการผลิตอะไมเลสและโปรติเอสบนอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวและถั่วเหลืองหมัก

จากผลการศึกษาการผลิตเอ็นไซม์โปรติเอส และอะไมเลสของกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ของกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%w/v และmaltodextrin 10%w/v ที่ผลิตได้จากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) โดยนำกล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 และกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour 10%w/v, maltodextrin 10%w/v ติดตามกระบวนการหมักและการผลิตเอ็นไซม์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) และถั่วเหลืองหมัก ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์พบว่ามีการผลิตเอ็นไซม์อะไมเลสที่แตกต่างกันคือ ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวกล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%w/v และกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วยsoybean flour 10%w/v มี relative activity ของอะไมเลสสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 ส่วนในถั่วเหลืองหมัก relative activity ของอะไมเลสสูงสุดชั่วโมงที่ 60 60 และ 48 ตามลำดับ (100%) ส่วนการผลิตเอ็นไซม์โปรติเอสพบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวมี relative activity ของโปรติเอสคือ กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1 กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin10%w/v และกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour 10%w/v มี relative activity สูงสุดในชั่วโมงที่ 60,48 และ 48 ตามลำดับ(100%) ส่วนในถั่วเหลืองหมัก relative activity ของอะไมเลสสูงสุดชั่วโมงที่ 60 60 และ 48 ตามลำดับ (100%) จากการวิเคราะห์จะเห็นได้ว่า relative activity ของอะไมเลส และโปรติเอส เมื่อทำการหมักถั่วเหลืองด้วยกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour จะใช้เวลาเพียง 48 ชั่วโมงในการผลิตอะไมเลสได้สูงสุดซึ่งใช้เวลาน้อยกว่าการใช้กล้าเชื้อสดในการหมัก มีการผลิตเอ็นไซม์ได้เป็นจำนวนมากในระยะเวลาที่สั้นกว่าการใช้กล้าเชื้อในรูปแบบอื่นๆ ซึ่งมีสาเหตุจากการที่กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour นั้นมีวัตถุดิบตั้งต้นเป็นถั่วเหลืองเช่นเดียวกันจึงทำให้เกิดการปลดปล่อยกิจกรรมของเอ็นไซม์ได้เร็วและมีปริมาณที่มากกว่า ดังตารางที่ 8 และ 10

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7 relative activity ของเอนไซม์อะไมเลสในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth) ระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	**relative activity(%)**		
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin 10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย soybean flour 10%w/v**
0	0.00	0.00	0.00
12	30.36	42.10	36.35
24	77.43	69.34	53.62
36	82.17	71.79	77.42
48	75.85	85.22	85.91
60	100.00	100.00	100.00
72	72.91	63.77	66.67

ตารางที่ 8 relative activity ของเอนไซม์อะไมเลสในถั่วเหลืองหมักระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	**relative activity(%)**		
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย soybean flour 10%w/v**
0	0.00	0.00	0.00
12	0.00	0.00	0.00
24	53.24	13.77	19.63
36	88.47	85.38	82.22
48	81.55	81.34	100.00
60	100.00	100.00	90.55
72	58.69	78.15	83.76

ตารางที่ 9 relative activity ของเอนไซม์โปรติเอสในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว nutrient broth ระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	**relative activity (%)**		
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin 10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย soybean flour 10%w/v**
0	0.00	0.00	0.00
12	30.36	31.76	43.22
24	77.43	60.32	79.46
36	82.17	84.68	85.23
48	75.85	100.00	100.00
60	100.00	83.69	79.31
72	72.91	61.71	70.00

ตารางที่ 10 relative activity ของเอนไซม์โปรติเอสในถั่วเหลืองหมักระยะเวลา 0-72 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	**relative activity (%)**		
	กล้าเชื้อสด *B.subtilis* SB-MYP1	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย maltodextrin 10%w/v**	**กล้าเชื้อ** *B.subtilis* SB-MYP1 **ด้วย soybean flour 10%w/v**
0	0.00	0.00	0.00
12	20.64	42.91	20.47
24	50.43	32.51	47.99
36	76.67	61.75	76.90
48	67.35	62.20	100.00
60	100.00	100.00	89.09
72	62.45	48.88	71.71

ตอนที่ 3 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 เดือน

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และ soybean flour ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่ดูดอากาศออก 50% โดยพิจารณาจากปริมาณความชื้นที่เพิ่มมากขึ้น และการลดลงของ *B.subtilis* SB-MYP1 พบว่ากล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour มีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 3.22 เป็น 7.44 มีการลดลงของ *B.subtilis* SB-MYP1 จาก 8.75 log cfu/gเป็น 5.34 log cfu/g และกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin มีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 5.66 เป็น 6.29 มีการลดลงของ *B.suibtils* SB-MYP1 จาก 8.84log cfu/g เหลือ 5.18log cfu/g อย่างไรก็ตามปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้นยังไม่เกินร้อยละ 7 ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ยังเป็นผงแห้งอยู่ และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่หลงเหลือยังมีปริมาณที่เพียงพอต่อการใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักต่อไป ซึ่งสรุปได้ว่ากล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin และ กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour มีอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 11 ปริมาณความชื้นของกล้าเชื้อผงที่เปลี่ยนแปลงไปในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน

กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1	**ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)**									P-value
	วันที่1	**วันที่ 3**	**วันที่ 5**	**วันที่ 7**	**วันที่ 14**	**วันที่ 21**	**วันที่ 28**	**วันที่ 60**	**วันที่ 90**	
soybean flour 10%w/v	3.22^{e}	3.30^{e}	3.37^{e}	3.40^{e}	4.04^{d}	4.50^{d}	5.14^{c}	6.20^{b}	7.44^{a}	0.00
Maltodextrin 10%w/v	5.66^{c}	5.73^{c}	5.75^{c}	5.80^{c}	5.88^{c}	6.00^{b}	6.10^{b}	6.23^{a}	6.29^{a}	0.00

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตารางที่ 12 จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 ที่เปลี่ยนแปลงไปในสภาวะการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน

กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1	**จำนวน *B.subtilis* SB-MYP1 (log cfu/g)**									P-value
	วันที่1	**วันที่ 3**	**วันที่ 5**	**วันที่ 7**	**วันที่ 14**	**วันที่ 21**	**วันที่ 28**	**วันที่ 60**	**วันที่ 90**	
soybean flour 10%w/v	8.75^{a}	6.50^{a}	6.51^{a}	6.30^{b}	6.00^{b}	5.85^{b}	5.80^{b}	5.73^{b}	5.34^{c}	0.00
Maltodextrin 10%w/v	8.84^{a}	7.00^{b}	6.84^{b}	6.80^{b}	6.20^{b}	6.00^{c}	5.78^{c}	5.55^{c}	5.18^{c}	0.00

หมายเหตุ P-value < 0.01 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ
P-value < 0.05 หมายถึงตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
P-value > 0.05 หมายถึงตัวอย่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

บทที่ 4
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ช่วยลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และระยะเวลาในการหมัก ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์โดยรวมดีกว่าการหมักแบบธรรมชาติ งานวิจัยนี้ได้นำเทคโนโลยีการผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ให้อยู่ในรูปที่สามารถนำมาใช้งานและควบคุมได้ง่ายเพื่อนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก การผลิตกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ครั้งนี้ได้ใช้กระบวนการทำแห้ง 2 ชนิดคือ การอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray dried) และการทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง (freeze dried) ซึ่งในการผลิตนี้จะมีปัจจัยในเรื่องของอุณหภูมิมาเกี่ยวข้องจึงต้องมีการเติมสารปกป้องเซลล์ซึ่งมีผลช่วยให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นการป้องกันไม่ให้เซลล์ได้รับอันตรายโดยการอบแห้งแบบพ่นฝอยใช้ maltodextrin 20%w/v และ skim milk 50%w/v มีอัตราการอยู่รอดของ *B.subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 74.24 และ 91.37 แต่ได้ปริมาณของผงผลิตภัณฑ์ค่อนข้างน้อยเนื่องจากเสียไปในระหว่างกระบวนการผลิต การทำแห้งโดยการระเหิดแห้งมีสารปกป้องจากความเย็นเป็น maltodextrin 10%w/v skim milk 40%w/v sucrose 10%w/v soybean flour 10%w/v และ มีอัตราการอยู่รอดของ กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ร้อยละ 84.24 89.02 84.60 และ 91.32 ตามลำดับคัดเลือกวิธีการที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตกล้าเชื้อผงและความเป็นไปได้ของการใช้กล้าเชื้อในการผลิตถั่วเหลืองหมักคือกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 จากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze dryer) คือกล้าเชื้อผงด้วยmaltodextrin 10%w/v และกล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10 %w/v วิเคราะห์คุณสมบัติของการเป็นกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 โดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผลิตได้มาหมักถั่วเหลืองติดตามกระบวนการหมักในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว และถั่วเหลืองหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการติดตามกระบวนการหมักได้แก่ ระยะเวลาที่ใช้ในกระบวนการหมัก การผลิตเอนไซม์โปรติเอส และอะไมเลส พบว่า *B.subtilis* SB-MYP1 และ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour มีความสม่ำเสมอในระหว่างระยะเวลาการหมัก และมีประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตเอนไซม์ที่ดี ในขณะที่การหมักโดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin 10 %w/v ไม่มีความสม่ำเสมอ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 อยู่ในสภาวะที่ถูกห่อหุ้มด้วย maltodextrin และ soybean flour จะมีอัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ช้ากว่ากล้าเชื้อสดที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการทำแห้ง เนื่องจากในกระบวนการหมักของกล้าเชื้อเมื่อทำการเติมเชื้อ (inoculum) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือวัตถุดิบแล้ว กล้าเชื้อสดจะมีการเจริญตามปกติแต่กล้าเชื้อที่ถูกห่อหุ้มจะมีระยะเวลาในการปลดปล่อยเซลล์และการเจริญที่ใช้เวลามากกว่า ทั้งนี้ถึงแม้ว่าจะการหมักที่ใช้กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10 %w/v จะใช้เวลานานกว่า แต่ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความสม่ำเสมอเช่นเดียวกันกับการใช้กล้าเชื้อสด ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นกล้าเชื้อเพื่อการผลิตถั่วเหลืองหมักเพื่อให้มีคุณค่าทางโภชนาการทางอาหารและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นำกล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin 10%w/v และ กล้าเชื้อผงด้วย soybean flour 10%w/v มาหาอายุการเก็บรักษาพบว่าจากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin และ soybean flour ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยพิจารณาจากปริมาณความชื้นที่เพิ่มมากขึ้น และการลดจำนวนลงของ *B.subtilis* SB-MYP1 พบว่ากล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flourและกล้าเชื้อผงด้วย maltodextrin มีปริมาณความชื้นที่เพิ่มขึ้นยังไม่เกินร้อยละ 7 ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ยังเป็นผงแห้งอยู่ และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่

หลงเหลือยังมีปริมาณที่เพียงพอต่อการใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักต่อไป สรุปได้ว่า กล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour และกล้าเชื้อผง *B.subtilis* SB-MYP1 ด้วย maltodextrin มีอายุการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 3 เดือน จากงานวิจัยนี้พบว่า skim milk 50%w/v ด้วยวิธี spray dry และsoybean flour 10%w/v ด้วยวิธี Freeze dry มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ที่เท่ากันคือ ร้อยละ 91.37 แต่ในงานวิจัยนี้ได้เลือก soybean flour 10%w/v ด้วยวิธี freeze dry มาใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นกล้าเชื้อหมักถั่วเหลือง เพราะวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักคือ ถั่วเหลืองซึ่งมีความเหมาะสมกับสารปกป้องที่นำมาใช้ในกระบวนการลิตกล้าเชื้อผง ในขณะที่ skim milk ไม่มีความเหมาะสมต่อการนำมาหมักถั่วเหลืองเพราะอาจมีการรบกวนกระบวนการหมักด้วยคุณสมบัติที่แตกต่างทำให้เกิดความเสียหายของผลิตภัณฑ์ได้

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถใช้เทคโนโลยีในการผลิตกล้าเชื้อผงให้อยู่ในรูปที่สามารถใช้งานได้ง่าย เพื่อควบคุมกระบวนการหมักให้มีประสิทธิภาพ ทำให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเป็นการเก็บรักษากล้าเชื้อให้อยู่นานมากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยสามารถยืนยันคุณภาพผลิตภัณฑ์ถั่วหมักที่หมักโดยใช้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 ที่ผ่านกระบวนการทำแห้ง ซึ่งกล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 จะยึดเกาะกับองค์ประกอบของถั่วเหลือง จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพที่ดี มีความสม่ำเสมอในทุกครั้งของการหมัก และได้กล้าเชื้อ *B.subtilis* SB-MYP1 อยู่ในรูปที่สะดวกต่อการใช้งาน เก็บรักษาได้นาน และยังส่งเสริมการแปรรูปเป็นอาหารหมักในรูปแบบอื่นๆ เพื่อให้เหมาะสมกับผู้บริโภคได้

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บรรณานุกรม

เกตุการ ดาจันทรา, ประภาพร เบ้าเพิ่ง, พิชญาธิราช, ภานุพงษ์ ศานติธรรม, เอกชัย ชูเกียรติโรจน์ และ อรุณีอภิชาติสรางกรู. (2549) . การศึกษาเชิงเปรียบเทียบของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสของเชื้อ *Bacillus* ที่แยกได้จากถั่วเน่า.ประชุมเชิงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยครั้งที่ 33.

จินตนา ศรีผุย. (2537). การศึกษาผลของสภาวะการอบแห้งแบบพ่นฝอยที่มีผลต่อคุณภาพสารชีวภาพ. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

ปัณณธร ภัทรสถาพรกุล. (2547). เทคโนโลยีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (ตอนที่ 1) [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.thairefrig.or.th/download/thairefrig_or_th/lyophilization%20technology1

ปิยะวรรณ กาสลัก และรัชฎาพรอุ่นศิวิไลย์. (2554). มีการพัฒนาวิธีการหมักถั่วเหลืองโดยใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่มีคุณสมบัติในการช่วยลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของถั่วเหลืองหมัก

ภัทรียา จุฑามาศ. (2541). **การใช้น้ำเวย์เพื่อผลิตกล้าเชื้อแลคติคแอซิคแบคทีเรียและผลของสารปกป้องเซลล์ต่อการอยู่รอดของเชื้อ** [ออนไลน์]**.** ได้จาก : http://anchan.lib.ku.ac.th/kukr/bitstream/003/16290/1/KC3806010.pdf

ภาณุวรรณ จันทวรรณกูร. (2543). การศึกษาถั่วหมัก.....อาหารพื้นบ้านในภาคเหนือ [ออนไลน์]. ได้จาก : http://www.science.cmu.ac.th/jou7.html

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. (2532). เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.หน้า 209

สถาบันค้นคว้าผลิตภัณฑ์อาหาร.(2527).ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

AOAC.(2000). Official methods of analysis of AOAC international.17th ed. AOAC internationalGaithersburg, USA.

Chantawannakul, P; Oncharoen, A ;Klanbut, K; Chukeatirote, E. and Lumyong, S. (2002). Charaterizationofproteasas of Bacillus subtilis strain 38 isolated from traditionally fermentedsoybeanin northern Thailand. ScienceAsia 28.2002;241-245.

Chantawannakul, P., Chukeatirote, E., Oncharoen, A., Klanbut, K., and Lumyong, S. (2003). Screening and isolation of *Bacillus subtilis* SB-MYP1exhibiting protease activityfromThuaNao.

Crowe, CT., Chow, LC., and Chung, JN. (1985). Assessment of numerical models for spray-drying. London: Hemisphere publishing Corporation.

Ducept, F., Sionneau, M., an Vasseur, J. (2002).Superheates steam dryer: simulations and experiments on product drying. Chemical engineering J. 86 : 75-83.

Feng, J., Liu, X., Xu, Z.R., Lu, Y.P., and Liu, Y.Y. (2007). Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activities in weaned piglets. Dig Dis Sci. 52:1845-1850.

EkachaiChukeatirote and PrimpraoThakang. (2006) . Chemical Composition of thuanao Fermented Soybean Food northern Thailand.Chiang Mai J. sci. 2006; 33(2) : 243 – 245.

Greenwald, CG., and King CJ. (1981). The effects of design and operating conditions on particle morphology for spray-dried foods. **Journal of Food Engineering**. 4 : 171-187.

Hemalatha, S. and Shanthi, S. (2010).*In vitro* characterization of bacteriocin producing *Subtilis* from milk samples.**African Journal of Microbiology Research**.4 : 2004-2010.

Hawlader, M.N.A., Perera, C.O., and Tian, M. (2005). Properties of modified atmosphere *Bacillus* heat pump dried foods. J. Food engineering, Article in press.

Hubaalek, Z. (2003). Protectants used in the cryopreservation of microorganism. **Cryobiology.** 46 : 205-229.

Inatsu, Y., Kimura, K. and Itoh, Y., (2002). Characterization of *Bacillus subtilis* strains isolated from fermented soybean foods in Southeast Asia : comparison with *B. subtilis*(*natto*) starter strains. Japan Agri. Res. Quart. 36: 169-175.

Inatsu, Y., Nakamura, N., Yuriko, Y., Fushimi, T., Watanasiritum, L., and Kawamoto, S. (2006). Characterization of *Bacillus subtilis* in Thuanao, a traditional fermented soybean food in northern Thailand.**Letters in Applied Microbiology**. 43: 237-242.

Johnson, RB. (1991). Spray drying in Food Industry. FPEI New.25 : 1-11.

Leejeerajumnean, A. (2003). Thuanao : Alkali fermented soybean from *Bacillus subtilis*.Silpakorn inter J. 3: 277-292.

Namaldi, A., Calik, P. and Uludag, Y. (2006). Effects of Spray Drying Temperature and Additiveson the Stability of Serine Alkaline Protease Powders. **Drying Technology.** 24: 1495–1500

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

Q. WEI., C. WOLF-HALL., K.C. CHANG.(2001).Natto Characteristics as Affected by Steaming Time, Bacillus Strain, and Fermentation Time.Journal Food Microbiology and Safety Vol. 66, No. 1, page 167-173.

Simpson, P.J., Stanton, C., Fitzgerald, G.F. and Ross, R.P. (2005). Intrinsic tolerance of Bifidobacterium species to heat and oxygen and survival following spray drying and storage. **Applied Microbiology.** 99 : 493-501.

Tajima, T. (2003).Processing and Utilization of Legumes [On-line]. Available: http://www.apo-tokyo.org/00e-books/AG-12_Legumes/AG-12_Legumes.pdf

Visessanguan, W., Benjakul, S., Potachareon, W., Panya, A., And Riebroy, S. (2005). Accelerated proteolysis of soy proteins during fermentation of Thua-nao inoculated with *Bacillussubtilis*. Journal of Food Biochemistry. 29: 349-366.

Wu, Z., Guo, L., Qin, S. and Li, C. (2012). Encapsulation of R. planticola Rs-2 from alginate-starch-bentonite and its controlled release and swelling behavior under simulated soil conditions. **J Ind Microbiol Biotechnol.** 39:317–327.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Nutrient Agar

Beef Extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อนจนเดือดแล้วใส่ขวดรูปชมพู่ นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที pH สุดท้าย 7.3 ± 0.2 เทใส่จานเพาะเชื้อจานละประมาณ 15 มล.

Nutrient Broth

Beef Extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำกลั่น 1 ลิตร ให้ความร้อน pH สุดท้าย 7.3 ± 0.2 แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที

Plate Count Agar

Tryptone	5.0	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose	1.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1	ลิตร

ให้ความร้อนจนเดือดเพื่อละลายส่วนผสม แบ่งใส่หลอดหรือขวดรูปชมพู่ นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121°C เป็นเวลา 15 นาที pH วัดครั้งสุดท้าย 7.0 ± 0.2 ก่อนใช้ให้เติมสารปฏิชีวนะ Chlortetracycline-HClบวก Chloramphenicol 2 มล. ต่ออาหาร 100 มล.

Peptone Water Diluent, 0.1%

Peptone	1.0	กรัม
Distilled water	1.0	ลิตร

ละลาย peptone ในน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 7.0 ± 0.1 ถ่ายใส่ขวดหรือหลอดที่จะทำการเจือจาง โดยเผื่อปริมาตรที่จะหายระหว่างการฆ่าเชื้อ ฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

MYP

MYP agar base	43	กรัม
Distilled water	900	มิลลิลิตร
Egg yolk emulsion	100	มิลลิลิตร
0.1% polymyxin B sulfate solution	10	มิลลิลิตร

ละลาย MYP agar base ในน้ำกลั่น ต้มให้เดือด แบ่งใส่ขวดๆ ละ 225 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 °C นาน 15 นาที เมื่อจะเท plate เติม 0.1% polymyxin B sulfate solution ขวดละ 2.5 มิลลิลิตร และเติม Egg yolk emulsion12.5 มิลลิลิตรต่อขวด

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ภาคผนวก ข

วีธีการวิเคราะห์

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

1.การทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย

กระบวนการของ Spray dryer เริ่มจาก อากาศจะถูกดูดผ่าน filter และผ่านตัวให้ความร้อนจากนั้นจึงเข้าสู่ห้องอบแห้ง (drying chamber) ส่วนวัตถุดิบที่ใช้ spray (feed) ควรมีลักษณะเหลวจากนั้นสารละลายของเหลวจะถูกดูดโดยปั๊มผ่านอุปกรณ์ที่ทำให้เกิดละอองฝอยภายในห้องอบและจุดสัมผัสกับอากาศร้อนทำให้เกิดการระเหยของน้ำอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิกระเปาะเปียกเล็กน้อยจะได้ผงผลิตภัณฑ์ที่ตกลงสู่ด้านล่างของ drying chamber และผงบางส่วนที่หลุดมากับอากาศจะถูกแยกโดยใช้ cyclone จนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย

รูปที่ 1 เครื่อง Buchi Mini Spray Dryer รุ่น B-191

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

2 การทำแห้งโดยการระเหิดแห้ง Freeze Dryer

หลักการทำงานของเครื่องนี้ใช้ในการทำแห้งตัวอย่างที่ต้องการรักษาคุณสมบัติตัวอย่างให้คงสภาพเดิม ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และขบวนการอื่นๆ ที่ทำให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพ ซึ่งเป็นการดึงน้ำออกจากตัวอย่าง โดยการทำให้ตัวอย่างเย็นจนเป็นเยือกแข็ง จากนั้นไอน้ำในตัวอย่างจะถูกดึงไปควบแน่นที่ Cooling condenser ภายใต้ความดันต่ำและอุณหภูมิต่ำ ทำให้ตัวอย่างแห้ง เมื่อเก็บตัวอย่างออกจากการทำแห้งด้วยเครื่อง Freeze-Dryer ต้องเก็บไว้ในภาชนะที่มีฝาปิดและดูดความชื้นทันที มิฉะนั้นตัวอย่างอาจถูกดูดกลับความชื้นในอากาศได้อีก

รูปที่ 2 เครื่อง Freez Dryer ยี่ห้อ GEA LyophilLyovac® GT 2

การวิเคราะห์เอนไซม์

การวิเคราะห์เอนไซม์โปรติเอสไลเปสและอะไมเลสมีขั้นตอนวิเคราะห์ดังนี้

1. Protease activity

ใช้ 2% azocaseinละลายใน Tris-HClpH 7.5 เป็นซับสเตรทวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 440 nm

crude extract+ TrisHCl pH 7.2
+ azocasein (2% in Tris – HCl 50 mM pH7.5)

↓

บ่มที่ 37 °c 30 นาที

↓

หยุดปฏิกิริยาด้วย TCA (trichloroacetic acid 10%)

↓ centrifuge 10000 rpm 20 นาที

วัดความยาวคลื่นที่ 440 nm

2. Amylase activity

ใช้ 2% starch เป็นซับสเตรทวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 nm

0.2 M phosphate buffer (pH 6.0)
+crude extract + starch solution 2%

↓ บ่มที่ 40 °c 15นาที

เติม dinitrosalicylic acid (DNS) reagent ต้มที่ 100°c 5 นาที

↓

ทำให้เย็นลงทันที และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นวัดความยาวคลื่นที่ 540 nm.

*Blank เตรียมโดยการเติม crude extract หลัง DNS reagent

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ประวัติผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

นางปิยะวรรณ กาสลัก

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

นางปิยะวรรณ กาสลัก ได้มีผลงานทางวิชาการดังต่อไปนี้

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

Thitikorn, M. and Gasaluck, P. 2011. Effect of Freeze-drying and maltodextrin matrix on Poly-γ-glutamic acid (PGA) productivity from Bacillus subtilisSB-MYP1starter powder.In Proceeding International Food Conference "Life Improvement through Food Technology" Surabaya, October 28th-29th pp. 80-85

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการ:การจัดทำระบบ GMP สำหรับน้ำปรุงรสผัดหมี่ 2555

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย : โครงการเรื่อง “การลดกลิ่นไม่พึงประสงค์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ถั่วหมัก โดยการใช้ *Bacillus subtilisSB-MYP1*เป็นกล้าเชื้อในการหมัก” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย : โครงการเรื่อง “การเฝ้าระวังการปนเปื้อนจุลินทรีย์และโลหะหนักในอาหารสำเร็จรูป เพื่อจำหน่ายในเขตจังหวัดนครราชสีมา” 2553

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

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการเรื่อง “การศึกษาผลการเติม แคลเซียมเบนโทไนต์ ในอาหารสัตว์ต่อการดูดซับสารพิษจากเชื้อรา” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย โครงการ “การพัฒนากุนเชียงไขมันต่ำ” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัยโครงการ “การยืดอายุการเก็บรักษาขนมถั่วกวนอบเทียน” 2553

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย การศึกษาอายุการเก็บของขนมถั่วอบเทียน 2552

นางปิยะวรรณ กาสลัก ผู้ร่วมโครงการวิจัยโครงการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในโรงฆ่าสุกร การขนส่งจากโรงฆ่าไปยัง จุดจำหน่าย และแหล่งจำหน่ายเนื้อสุกร ในเขตจังหวัดนครราชสีมาและอุบลราชธานี 2552

นางปิยะวรรณ กาสลัก ผู้ร่วมโครงการวิจัยการวิจัย สถานการณ์ความปลอดภัยด้านผักและผลไม้กรณีตลาดนัด-รถเร่(ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง) 2548

นางปิยะวรรณ กาสลัก หัวหน้าโครงการวิจัย การใช้ไนซินในการยับยั้งการงอกของสปอร์ *Clostridium* spp. ที่คัดแยกมาจากชิ้นปลาที่บรรจุในสภาวะการปรับเปลี่ยนบรรยากาศ 2544

ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
จังหวัด นครราชสีมา 30000
โทรศัพท์ 0-4422 - 4270 โทรสาร 0-4422 – 4387
Email address: piyawan@sut.ac.th

ประวัติผู้ร่วมโครงการวิจัย

นางสาวปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์

นางสาวปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์ ปัจจุบันดำรงตำแหน่ง อาจารย์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามจบการศึกษาระดับปริญญาโทเทคโนโลยีอาหารและโภชนาการ (เกียรตินิยม)เมื่อปี พ.ศ.2538 มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จบการศึกษาระดับปริญญาเอก สาขาวิชาชีววิทยา เมื่อปี พ.ศ.2546 University of Reading ประเทศอังกฤษ

นางสาวปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์ ได้มีผลงานทางวิชาการดังต่อไปนี้

1. ผลของการเติมน้ำผลไม้บางชนิดต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*
2. การใช้การถั่วเหลืองทดแทนถั่วเหลืองในกระบวนการหมักซีอิ้ว
3. Taxonomic Study of Lactic Acid Bacteria from Marine Sources. ณ Faculty of Applied Bioscience, Tokyo University of Agriculture, Japan ภายใต้โครงการ “ความร่วมมือทางวิชาการระหว่างสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและองค์การส่งเสริมความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์แห่งประเทศญี่ปุ่น (NRCT-JSPS): Scientific Exchange Program 2000”
4. ผลของสารพรีไบโอติคต่อการเจริญและการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์นมหมัก
5. การผลิตน้ำนมหมักจากน้ำนมข้าวเม่าโดยเชื้อโพรไบโอติค
6. ผลของเชื้อโพรไบโอติคต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค (pathogens) และantagonistic activity ระหว่างเชื้อทั้ง 2 กลุ่ม
7. การจัดทำสถานภาพและพัฒนาโปรแกรมฐานข้อมูลด้านเทคโนโลยีการผลิตของอุตสาหกรรมอาหารในประเทศไทย
8. Survival of probiotic bacteria in commercial dairy products ณ University of Sharjah and Sharjah Food Control and Consultancy, United Arab Emirates ภายใต้โครงการแลกเปลี่ยนบุคลากรของสถาบันอุดมศึกษาไทยกับต่างประเทศ “University Mobility in Asia and the Pacific- UMAP Projects Scholarship 2004”

9. การศึกษาการป้องกันการติดเชื้อ *Campylobacter jejuni* ในไก่เนื้อและการศึกษา probiotic bacteriaเพื่อป้องกันการติดเชื้อในลำไส้ไก่
10. Methods used for isolation and identification of probiotic bacteria isolated from fermented Thai foodณ University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria ภายใต้โครงการแลกเปลี่ยน "The ASEA-UNINET Scientist Exchange Scholarship 2006"
11. การศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและการใช้ประโยชน์ของพืชบางชนิดในประเทศไทย
12. การทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของสารทำความสะอาดจากสารสกัดผลไม้หมัก
13. การคัดเลือกตัวพาที่เหมาะสมในการเก็บรักษาแบคทีเรียโพรไบโอติคโดยการทำแห้งแบบพ่นฝอย
14. การผลิตนมถั่วเหลืองผงเสริมแบคทีเรียโพรไบโอติค
15. ผลของสารพรีไบโอติคและโพรไบโอติคต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็งตับ
16. การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติคในผักดองไทย
17. องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาของน้ำผึ้งดอกทานตะวันและการใช้สำหรับผลิตภัณฑ์ซินไบโอติค
18. The Inter-species Interaction of Lactic Acid Flora with *Staphylococcus aureus* in Traditional Thai Fermented Foods by Transcriptomic Analysis (ภายใต้โครงการวิจัยร่วมไทย-ฝรั่งเศส :Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2007-2008 ระหว่าง สกอ.,มทส.,มมส., French Gvt. (MENESR, MAE) , French Institutes (INSA: Toulouse, INSA: Rennes/ 2550-2551)
19. กิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักพื้นบ้านไทยประเภทเนื้อต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus*
20. ผลของสารพรีไบโอติคที่สกัดจากเห็ดและพืชต่อการเจริญ การสร้างกรด และการผลิตสาร Shor Chain Fatty Acid ของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติค
21. การคัดเลือกเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นเชื้อโพรไบโอติคจากน้ำนมเหลืองคน
22. Novel strategy development for biocontrol of Staphylococcus aureus by non-antibiotics in food products (ภายใต้โครงการวิจัยร่วมไทย-ฝรั่งเศส :Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2009-2010 ระหว่าง สกอ.,มทส.,มมส., French Gvt. (MENESR, MAE) , French Institutes (INSA: Toulouse, INSA: Rennes/ 2552-2553)
23. Realisation of a Thai-French Master Degree and Continuing Education in Industrial Biotechnology (แหล่งทุน European Union/2552-2553)
24. การยับยั้งเชื้อราและการลดสารอะฟลาทอกซินโดยแลคติคแอซิดแบคทีเรีย
25. Potential of lactic acid bacteria as biopreservatives and biocontrols for mycotoxin decontamination in food chain production (ภายใต้โครงการวิจัยร่วมไทย-ฝรั่งเศส :Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2011-2012 ระหว่าง สกอ.,มมส., มข., French Gvt. (MENESR, MAE) , French Institutes (ENSAT: Toulouse, Université Paul Cézanne-Marseille/ 2554-2555)

Publications:

1. Expert members of the International Dairy Federation (IDF) : Action Team on Inventory of Micro-organisms used in dairy and food products / IDF Action Team "Properties of cultures used in Dairy Products" working with an expert team from France, United Kingdom, Ireland, Finland, Germany, Denmark, Australia and Singapore (2005-present)
2. Scientific Program Committee. The First International Conference on Natural Products for Health and Beauty. ที่โรงแรมตักศิลา มหาสารคาม ระหว่างวันที่ 17 – 21 ตุลาคม 2548
3. Co-chairman. The Symposium on “Cosmetics from Natural Products”, the first International Conference on Natural Products for Health and Beauty. ที่โรงแรมตักศิลา มหาสารคาม ระหว่างวันที่ 17 – 21 ตุลาคม 2548
4. Abstract Reviewer : Joint international conference of 8th International Symposium on Clinical Nutrition, International Union of Nutritional Science (8th ISCN-IUNS) and 5th Asia Pacific Clinical Nutrition Society (5th APCNS), Oct 2006, Hangzhou, China (2006)
5. Organising Committee. The 20th Annual Meeting and International Conferenceof the Thai Society for Biotechnology. ที่โรงแรมตักศิลา มหาสารคาม ระหว่างวันที่ 14 – 17 ตุลาคม 2551
6. Abstract Reviewer: The 20th Annual Meeting and International Conferenceof the Thai Society for Biotechnology. (2008).
7. Reviewer of the Scientific Journal “Journal of Food Science” : The Society for Food Science and Technology, Institute of Food Technologists, USA. (2008- present).
8. Reviewer of the Scientific Journal “Beneficial Microbs” :Wageningen Academic Publishers, the Netherlands. (2009- present).
9. ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2540) การศึกษาผลของการเติมน้ำผลไม้บางชนิดต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*.*รายงานการวิจัย.* มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
10. ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2542) การศึกษาการใช้การถั่วเหลืองทดแทนถั่วเหลืองในกระบวนการหมักซีอิ้ว.*รายงานการวิจัย.* มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
11. ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2547) การผลิตน้ำนมหมักจากน้ำนมข้าวเม่าโดยเชื้อโพรไบโอติค. *รายงานการวิจัย.* มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
12. ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2548) ผลของสารพรีไบโอติคต่อการเจริญและการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์นมหมัก.*รายงานการวิจัย.* มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม.
13. ไมตรี สุทธจิตต์, ศิริธร ศิริอมรพันธ์และ ปริยาภรณ์อิศรานุวัฒน์. (2548) แนวโน้มของการวิจัยและการพัฒนาอาหารไทยเพื่อสุขภาพ. *บรรยายพิเศษ*. การประชุมวิชาการ “เทคโนโลยีอาหารก้าวไกลนำไทยสู่ครัวโลก”, ศูนย์ประชุมไบเทค บางนา,กรุงเทพมหานคร.
14. โศภิษฐ์ เวทยสุภรณ์ และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2548) จุลินทรีย์EM(Effective Microorganisms) เพื่อการเกษตรธรรมชาติ. *วารสารแก่นเกษตร*. 3 :175-178.

15. Itsaranuwat, P. and Yamasato, K. (2000) Taxonomic Study of Lactic Acid Bacteria from Marine Sources. *A report*. Scientific Exchange Program (NRCT – JSPS).
16. Itsaranuwat, P. and Robinson, R.K. (2001) The Growth and Acid Production of Probiotic Bacteria in Soy Yoghurt. *Poster presentation*. The fifth annual Danone Symposium on "International Nutrition Conference to Focus on Fermented Foods and Healthy Digestive Functions", Mexico City, Mexico.
17. Robinson, R.K. and Itsaranuwat, P. (2002) The Microbiology of concentrated and dried milk. In *"Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products".* 3rd Edition. Robinson, R.K. (Editor), John Wiley and Sons, Inc., New York. Pp 175-211.
18. Itsaranuwat, P. and Robinson, R.K. (2002) Rheological Properties of Soy Yoghurt. *Abstract*. Foss Prize for Dairy Science.
19. Itsaranuwat, P. (2003) Aspects of the Fermentation of Soy Milk. *PhD. Thesis*, The University of Reading, Reading, United Kingdom. 227 pages.
20. Itsaranuwat, P. and Robinson, R.K. (2003) Production and use of dairy products in Thailand. *International Journal of Dairy Technology*. 56 (1): 6-11.
21. Itsaranuwat, P., Al-Haddad, K. S. H. and Robinson, R.K. (2003) The potential therapeutic benefits of consuming 'health-promoting' fermented dairy products: a brief update. *International Journal of Dairy Technology*. 56 (4): 203-210.
22. Itsaranuwat, P. and Robinson, R.K. (2005) The Rheological and sensory properties of some soya yoghurt. *Journal of Food Technology.* 3 (1): 01-09.
23. Itsaranuwat, P. (2005)Growth and survival of *Lactobacillus acidophilus* in milk containing cereal powders. *Poster presentation*. The eighth Symposium on Lactic Acid Bacteria. Egmondaan Zee, The Netherlands.
24. Itsaranuwat, P. (2005)Application of probiotic bacteria in cereal products. *Invited speaker*. The first International Conference on Natural Products for Health and Beauty. Mahasarakham, Thailand.
25. Itsaranuwat. P. (2005) Potential of combination between probiotics and some plants as prebiotics. Expert meeting. CSIRO – ILSI SEA Regional Collaboration Workshop on Gut Health, Singapore. December 10, 2005.
26. Itsaranuwat. P. (2005) Prebiotic in Thai medicinal plants and probiotics. The Meeting on Clinical Nutritions. Ministry of Industry and Fame Pharmaceuticals Co., Ltd., Yangon City, Myanmar. March 27-29, 2006.
27. Robinson, R. K. and Itsaranuwat, P. (2006) Properties of Yoghurt and their Appraisal. In "Fermented Milk". Tamime, A.Y. (Editor). Blackwell Publishing, Oxford, pp 76-94.
28. Itsaranuwat. P. (2007) *Invited Speaker.* Lactic Acid Bacteria : the Promising Cultures for Biobusiness and Better Quality of Life. Thai Society for Biotechnology 19th. Annual

Meeting: Biotechnology for Gross National Happiness" 9-12 October. 2007, Thammasat University, Rangsit Center, Pathumthani, Thailand.

29. Itsaranuwat. P., Muadsee, P., Kongbuntud, W. and Kaensakoo, R. (2008) Effect of tuber plant extracts as potential prebiotics on Bifidobacteriumlactis BL-04 and human cancer cell line : Hep G2 . *Poster presentation*. The ninth Symposium on Lactic Acid Bacteria. Egmondaan Zee, The Netherlands.
30. Itsaranuwat. P., Duangkhamchan, W. and Suttajit, M. (2008) Viability of Lactobacillus acidophilus LA-5 after spray-drying in different conditions. *Poster presentation*. The ninth Symposium on Lactic Acid Bacteria. Egmondaan Zee, The Netherlands.
31. Itsaranuwat, P. (2008) Recent development in the areas of prebiotics, probiotics and lactic acid bacteria. *Invited speaker*. the 2nd International Conference on Natural Products for Health and Beauty, Payao Thailand.
32. Chaiyawan, N., Taveeteptaikul. P., Wannisson, B., Ruengsomwong, S., Klungsupya, P., Buaban, W., and Itsaranuwat, P. (2009) Characterisation of spore-forming probiotic bacteria isolated from broiler chickens. *Poster presentation*. The 5th Asian Conference on Lactic Acid Bacteria: Microbes in Disease Prevention. Singapore.
33. Chaiyawan, N., Taveeteptaikul. P., Wannisson, B., Ruengsomwong, S., Klungsupya, P., Buaban, W., and Itsaranuwat, P. (2010) Characterization and probiotic properties of *Bacillus* strains isolated from broiler. The Thai Journal of Veterinary Medicine. 40(2); 9-14.

ทุน และรางวัลที่ได้รับ :

1. "The Royal Thai Government Scholarship" for MSc – PhD study (2000-2003).
2. "JSPS Scholarship: Scientific Exchange Program (NRCT-JSPS)" to conduct research at the Department of Fermentation Science, Tokyo University of Agriculture, Japan. (2000).
3. "The Arthur Hosier Award" from the University of Reading, U.K. (2001).
4. "FOSS Prize for Dairy Science" from the Society of Dairy Technology, U.K. (2002).
5. "The President's Fund" from the Society for Applied Microbiology, U.K. (2002).
6. "University Mobility in Asia and the Pacific- UMAP Projects Scholarship" for collaboration and conducting research in the topic : Survival of probiotic bacteria in commercial products at University of Sharjah and Sharjah Food Control and Consultancy, United Arab Emirates. (2004-2005).
7. "The Young Scientists Meeting Grant Award" from Federation of European Microbiological Societies. (2005).

8. " The ASEA-UNINET Scientist Exchange Scholarship 2006" to conduct research in the topic : Methods used for isolation and identification of probiotic bacteria at University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna, Austria. (2006)
9. "Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2007-2008" from the Thai Government and French Government.
10. "ASEM-DUO Fellowship Programme 2008" to conduct research in the Institut National Polytechnique, Toulouse, France (2008).
11. "Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2009-2010" from the Thai Government and French Government.
12. "Invited Professor Fellowship 2009" the Institut National Polytechnique, Toulouse, France (2009).
13. "Invited Professor Fellowship 2010" the Institut National Polytechnique, Toulouse, France (2010).
14. "Franco-Thai Cooperation Program in HigherEducation and Research Year 2011-2012" from the Thai Government and French Government.

ที่อยู่ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคามต. ขามเรียง อ. กันทรวิชัย
จ.มหาสารคาม 44150
โทรศัพท์ 043 754333 Ext 1832, 081-2612363 โทรสาร 043 754086
E-mail address : pariyaporn.i@msu.ac.th, olejaa@gmail.com

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี