

## บทคัดย่อ

เทคโนโลยีการผลิตกล้าเชื้อผง *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ด้วยการใช้แป้งถั่วเหลือง (Soybean flour) เป็นสารปกป้องความเย็นจากกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) กล้าเชื้อที่ได้จากกระบวนการนี้เมื่อเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์อะลูมิเนียมพอยล์ที่อุณหภูมิ -25 °C และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 6 เดือน พบว่ากล้าเชื้อผง *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -25°C เมื่อเวลาผ่านไป 180 วัน ยังคงมีปริมาณ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่รอดชีวิต ปริมาณความชื้น และค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของคุณสมบัติของการเป็นกล้าเชื้อผง ในขณะที่สภาวะการเก็บรักษากล้าเชื้อผงที่อุณหภูมิ 0°C และ 25°C มีจำนวนสปอร์ลดลงในวันที่ 30 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) และไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้แก่ *B. cereus* Yeast และ Mold รวมทั้งปริมาณสารพิษจากเชื้อรา aflatoxin จากกล้าเชื้อผง *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ซึ่งอยู่ในระดับความปลอดภัยตามมาตรฐานของกล้าเชื้อ เมื่อนำกล้าเชื้อผงที่ได้ไปวิเคราะห์ลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ 16s rRNA ด้วยวิธี sequencing เพื่อยืนยันสายพันธุ์และความเสถียรของกล้าเชื้อในการเก็บรักษา พบว่าผลทดสอบความคล้ายคลึงของยีน 16S rRNA บางส่วน (partial sequence) ของกล้าเชื้อสดและกล้าเชื้อผง ซึ่งมีคุณสมบัติความเป็นกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ที่ตรงกัน (อ้างอิงจากฐานข้อมูล NCBI (National Center for Biotechnology Information) จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของกล้าเชื้อ *Bacillus subtilis* SB-MYP1 ในกระบวนการหมักถั่วเหลืองเป็นเวลา 72 ชั่วโมงพบว่าในกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อสดและกล้าเชื้อผงไม่ปรากฏการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคระหว่างกระบวนการหมัก อัตราการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอสของการใช้กล้าเชื้อผงในกระบวนการหมักสูงสุด (ร้อยละ 100) ในชั่วโมงที่ 48 แสดงให้เห็นถึงการผลิตเอนไซม์ได้เป็นจำนวนมาก ในระยะเวลาที่สั้นทำให้เกิดกระบวนการหมักรวดเร็วและมีความเสถียรมากขึ้น นอกจากนี้ได้นำผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักไปวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ พบว่าถั่วเหลืองหมักด้วยกล้าเชื้อผงมีปริมาณแร่ธาตุและวิตามินสูงกว่าการใช้กล้าเชื้อสดในการหมักดังนี้ ปริมาณแคลเซียม 1227.00 mg/kg เหล็ก 24.75 mg/kg ฟอสฟอรัส 2337 mg/kg และวิตามินบี 12 20.82 mg/100g จึงสรุปได้ว่าเทคนิคการเก็บรักษากล้าเชื้อผง *B. subtilis* SB-MYP1 ด้วย soybean flour โดยกระบวนการทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้ง (freeze drier) มีคุณภาพ ประสิทธิภาพ และความปลอดภัยที่สามารถยืนยันความใช้ได้ในการการค้า จึงทำการฝากเก็บรักษากล้าเชื้อที่แหล่งเก็บเชื้อจุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) รหัสเชื้อ *Bacillus subtilis* SB MYP1 TISTR No. 2397 เพื่อการเก็บรักษาในสภาวะที่เหมาะสมและสำหรับการเผยแพร่เชื้อจุลินทรีย์ทางการศึกษาวิจัยและประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

## Abstract

The starter culture of freeze-dried *Bacillus subtilis* SB-MYP-1 (FDBS\_SB-MYP-1) was preserved with soybean flour cryoprotectant and kept in aluminum foil packages at -25, 0, and 25 °C for 6 months. The results showed that viability FDBS\_SB-MYP-1 preserved at -25 °C for 180 days remained, while its moisture content and water activity meet the standard requirement of powdered starter culture. In contrast, the spore of FDBS\_SB-MYP-1 preserved at 0 and 25 °C for 30 days decreased ( $P < 0.05$ ). The *B. cereus*, yeasts and molds, and aflatoxin were not found in all treatments, which were relevant to standard safety. Due to analyze the 16s rRNA sequencing for confirming the stability of starter culture, the consequence revealed that the partial sequence was similar to the fresh starter culture SB-MYP-1, which was relative to NCBI (National Center for Biotechnology Information). After that, the potential of FDBS\_SB-MYP-1 was tested in soybean fermentation during 72 h. It found that the food borne pathogens were not detected in all samples, and the relative activities of amylase and protease were approximately 100 at 48 h. It indicated that the stability of SB-MYP-1 remained during storage. In addition, the nutritional values of those fermented soybean products were analyzed. The results showed that the mineral and vitamin B of fermented soybean inoculated with FDBS\_SB-MYP-1 had higher than that of fresh culture. The calcium, ferric, phosphorus, vitamin B were about 1227.00 mg/kg, 24.75 mg/kg, 2337 mg/kg, 12 20.82 mg/100g, respectively. It noted that the FDBS\_SB-MYP-1 is a promising technique for starter culture preservation for confirming the starter culture potential and microbiological safety. Finally, SB-MYP-1 was kept at Thailand Institute of Scientific and Technological Research with the number of TISTR No. 2397 for further development of fermented food industry.