

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของการหมักถั่วเหลืองโดยใช้เทคโนโลยีหัวเชื้อบริสุทธิ์เริ่มต้น ต่อปริมาณไอโซฟลาโวน
ผู้เขียน	นางสาว ปัทมา กาญจนศิริธำรง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (การพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ไพโรจน์ วิริยจารี

### บทคัดย่อ

การคัดแยกเชื้อที่มีบทบาทหลักในการหมักถั่วเหลืองจากตัวอย่างถั่วเน่าสามารถจำแนกเชื้อได้เป็น *Bacillus subtilis* และ *Bacillus megaterium* ทั้งหมด 29 ไอโซเลท หลังจากทำการหมักถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อแต่ละไอโซเลทเป็นหัวเชื้อบริสุทธิ์สามารถแบ่งเชื้อได้ออกเป็น 3 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นเชื้อ *Bacillus subtilis* ซึ่งหมักถั่วเหลืองแล้วไม่ผลิตพอลิเมอร์ กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มของ *Bacillus subtilis* ที่สร้างพอลิเมอร์ที่ลักษณะคล้ายน้ำตาล และกลุ่มสุดท้ายเป็นกลุ่มของ *Bacillus megaterium* เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโวนสามารถคัดเลือกเชื้อซึ่งผลิตถั่วเหลืองหมักที่มีปริมาณไอโซฟลาโวน (ผลรวมของไดซีอินและเจนิสทิน) สูงสุดจากแต่ละกลุ่ม คือ *Bacillus subtilis* THUANAOLG01 *Bacillus subtilis* NATTOCR04 และ *Bacillus megaterium* PY03 ( $172.00 \pm 5.98$ ,  $110.00 \pm 1.16$  และ  $149.00 \pm 4.02$  มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง 100 กรัม)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตถั่วเหลืองหมักที่มีปริมาณไอโซฟลาโวนสูง พบว่าเชื้อเริ่มต้นบริสุทธิ์ที่เหมาะสมในการผลิต จะใช้เชื้อเริ่มต้นที่ความเข้มข้นเท่ากับ  $7-8 \log \text{ CFU/ml}$  สำหรับสัดส่วนปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นของ *Bacillus subtilis* THUANAOLG01 *Bacillus subtilis* NATTOCR04 และ *Bacillus megaterium* PY03 เท่ากับ ร้อยละ 8.00, 2.00 และ 8.00 ของน้ำหนักถั่วเหลือง ตามลำดับ และจากนั้นทำการหมักในสภาวะที่มีอากาศ ในอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยถั่วเหลืองที่นำมาใช้หมักมีปริมาณน้ำร้อยละ 70 และค่าความเป็นกรดค่าที่ 7.0

การศึกษาจลนพลศาสตร์ในการหมักถั่วเหลือง พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของ ค่าความเป็นกรดต่าง ปริมาณไคซอิน และ เจนิสทิน โดยเมื่อทำการหมักนานขึ้นจะทำให้ค่าสูงขึ้น โดยมีอัตราการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างจำเพาะ เท่ากับ  $0.018 \text{ ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1}$  อัตราการเปลี่ยนแปลง ปริมาณไคซอินจำเพาะ เท่ากับ  $0.754 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1}$  ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง อัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณเจนิสทินจำเพาะ เท่ากับ  $0.347 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1}$  ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และ อัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณไอโซฟลาโวนรวมจำเพาะ เท่ากับ  $1.066 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1}$  ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

ในการศึกษาผลของความร้อนต่อปริมาณไอโซฟลาโวนในถั่วเหลืองหมัก พบว่า การนึ่งถั่วเหลืองหมัก ที่ช่วงอุณหภูมิ 96-126 องศาเซลเซียส ณ ช่วงเวลา 12-33 นาที และการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 -74 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-27 ชั่วโมง ไม่ส่งผลต่อปริมาณไอโซฟลาโวนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

<b>Thesis Title</b>	Effect of Soybean Fermentation Using Starter Culture Technology on Isoflavones Content
<b>Author</b>	Miss Pattama Kanjanakeereetumrong
<b>Degree</b>	Master of Science (Agro-Industrial Product Development)
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc. Prof. Dr. Pairote Wiriyacharee

### Abstract

The isolation of dominant microorganism used from Thai-Fermented soybean was monitored. Twenty-nine isolates of *Bacillus subtilis* and *Bacillus megaterium* were identified. Each isolate so-called the pure starter culture fermented soybean. All of the isolates were divided into three groups. The first group was *Bacillus subtilis* which could not be able to produce polymer in fermented soybean product. The second group was *Bacillus subtilis* which showed its ability of producing natto-like polymer. The last group so-called *Bacillus megaterium*. Isoflavones content (daidzein and genistein) were determined from all kinds of fermented soybean products in order to select the strain that could be able to produce the isoflavone – rich product. It was found that *Bacillus subtilis* THUANAOLG01, *Bacillus subtilis* NATTOCR04 and *Bacillus megaterium* PY03 were the strains which could produce the highest amount of total isoflavones in each group ( $172.00 \pm 5.98$ ,  $110.00 \pm 1.16$  and  $149.00 \pm 4.02$  mg /100 g dry weight.)

The optimized condition of high isoflavones fermented soybean was studied. It was found that the suitable pure starter culture was prepared at a concentration of 7 – 8 log CFU / ml. The optimal proportion of *Bacillus subtilis* THUANAOLG01, *Bacillus subtilis* NATTOCR04 and

*Bacillus megaterium* PY03 were 8.00, 2.00 and 8.00 percentages of the weight of cooked soybean respectively. The suitable fermentation conditions were incubated in aerobic condition at 42 degree Celsius for 120 hours. The optimum water content was 70 percent whereas the pH was at 7.0 respectively.

The study on fermentation kinetics showed the changes of pH values, daidzein, genistein contents and total isoflavones. Since the longer time of fermentation taking place would make all these values even higher. The results showed the changes of pH and they were at  $0.018 \text{ ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1}$ , The changes of daidzein content were at  $0.754 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1} / 100 \text{ g dry weight}$ ,  $0.347 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1} / 100 \text{ g dry weight}$ . and the changes of total isoflavones were  $1.066 \text{ mg} \cdot \text{ml} \cdot \text{hr}^{-1} \cdot \text{CFU}^{-1} / 100 \text{ g dry weight}$ . respectively.

The study on effect of heat on isoflavones content in fermented soybean product was examined. It was found that temperatures used for steaming the fermented soybean were at the range of 96 – 126 degree Celsius at the duration of 12 – 33 minutes. In addition, drying process at 50 – 74 degree Celsius at the duration of 12 – 27 hours did not affect the amount of isoflavones content significantly ( $p > 0.05$ ).