

Thesis Title	Production of High Nutritional Fermented Soybean (<i>Thua Nao</i>) by <i>Bacillus subtilis</i>	
Author	Miss Katekan Dajanta	
Degree	Doctor of Philosophy (Food Science and Technology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Arunee Apichartsrangkoon	Chairperson
	Asst. Prof. Dr. Ekachai Chukeatirote	Member
	Dr. Ampin Kuntiya	Member

ABSTRACT

Thua Nao, similar to *Natto*, is a traditionally fermented soybean product of Northern Thailand. In general, *Thua Nao* is prepared on a household scale without scientific basis. Therefore, this study aimed to upgrade Thai indigenous foods by using pure starter culture of *Bacillus subtilis* strain TN51 isolated from commercial *Thua Nao*. Interestingly, the developed *Thua Nao* (TNB51) had distinctive characteristics, including the presence of a mucous substance, and a nutty odour without musty smell of ammonia which is a typical odour of traditional *Thua Nao*. *B. subtilis* TN51 used in this study had strong proteolytic activity, and hence possibly helped to release a high quantity of amino acids in the product. Preliminary sensory evaluation using fifty local panelists who are familiar with this product showed that TNB51 *Thua Nao* obtained significantly higher sensory scores than the traditional product (TNMX) ($P \leq 0.05$). A study of nutritive values of TNB51 showed that, after fermentation, its total phenolic content increased by 21%. Total free amino acids and essential amino acids (EAA₁₀) increased by 644 and 583%, respectively. The identification of volatile compounds in both types of *Thua Nao*, including cooked non-fermented soybeans (CNF), illustrated that 85 components contributed to the olfactory characteristics of the product. Remarkably, the TNB51 product possessed a

pyrazine group (i.e., 2,5-dimethylpyrazine) as the major constituent (48.66%) following by acids and esters (24.48%). In addition, total isoflavones including daidzin, glycitin, genistin, daidzein, glycitein, and genistein in TNB51 product increased by 43%, and especially their aglycone contents were found to increase by more than 300% as compared with the CNF sample.

A study of shelf-life quality of the products packed under normal and vacuum conditions, subsequently stored at 4°C, revealed that both packing conditions could prolong storage time to a duration of 10 – 60 days based on their apparent characteristics and chemical qualities.

Overall, *Thua Nao* produced by pure starter culture could add more value to the traditional product, especially *B. subtilis* TN51 had high potential for improving *Thua Nao* quality and is recommended to be further developed at a commercial scale.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตถั่วเหลืองหมัก (ถั่วเนา) ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเชื้อบาซิลลัส ซับทิลิส	
ผู้เขียน	นางสาวเกตุกร ดาจันทา	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. อรุณี อภิชาติสร่างกูร	ประธานกรรมการ
	ผศ. ดร. เอกชัย ชูเกียรติโรจน์	กรรมการ
	ดร. อำพิน กันธิยะ	กรรมการ

บทคัดย่อ

ถั่วเนา เป็นถั่วเหลืองหมักพื้นเมืองทางภาคเหนือของไทยคล้ายนัตโต โดยทั่วไปการผลิตถั่วเนานั้นเป็นการผลิตในระดับครัวเรือนที่ขาดข้อมูลพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการยกระดับอาหารพื้นบ้านของไทยโดยการปรับปรุงถั่วเนาพื้นบ้านด้วยกล้าเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ *Bacillus subtilis* strain 51 ซึ่งแยกมาจากถั่วเนาการค้า ทำให้ถั่วเนาที่หมักได้มีลักษณะพิเศษคือสร้างสารเมือกเหนียว มีกลิ่นหอม (nutty odour) ปราศจากกลิ่นเหม็นของแอมโมเนียซึ่งเป็นกลิ่นจำเพาะของถั่วเนาพื้นเมือง นอกจากนี้กล้าเชื้อที่ใช้เป็นสายพันธุ์ที่มีค่ากิจกรรมเอนไซม์โปรตีเนสสูงส่งผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดอะมิโนสูงเช่นกัน จากผลการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบชิมซึ่งเป็นคนในท้องถิ่นจำนวน 50 คน ที่คุ้นเคยกับถั่วเนาดี พบว่าถั่วเนาหมักด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์มีลักษณะทางประสาทสัมผัสเหนือกว่าถั่วเนาพื้นบ้านอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเนาหมักด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์ พบว่า ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากการหมัก 21% ปริมาณของกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดและกรดอะมิโนที่จำเป็น (EAA_{10}) ก็เพิ่มสูง 644 และ 583% ตามลำดับ จากการวิเคราะห์สารระเหยในถั่วเนาทั้ง 2 ชนิดและถั่วเหลืองต้ม พบสารระเหยที่ให้กลิ่นทั้งหมด 85 ชนิด โดยเฉพาะถั่วเนาที่หมักด้วยกล้าเชื้อบริสุทธิ์พบสารระเหยในกลุ่มไพราซีน เช่น 2,5-dimethylpyrazine สูงที่สุด 48.66% รองลงมาได้แก่สารระเหยกลุ่มกรดอินทรีย์และเอสเทอร์ 24.48% นอกจากนี้ยังพบสารประกอบ

ไอโซฟลาโวนทั้งหมด ได้แก่ daidzin glycitin genistin daidzein glycitein และ genistein เพิ่มขึ้น 43% จากการหมักด้วยกล้ำเชื้อบริสุทธิ์ โดยเฉพาะสารในรูป aglycone มีปริมาณเพิ่มมากกว่า 300% เมื่อเทียบกับถั่วเหลืองต้ม

จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในสภาวะปกติและการบรรจุในสภาวะสุญญากาศ จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าการบรรจุทั้ง 2 วิธี ทำให้ถั่วเน่ามีอายุการเก็บได้ประมาณ 10 – 60 วัน โดยประเมินจากลักษณะปรากฏและคุณภาพทางเคมี

จากผลการวิจัยสรุปได้ว่าถั่วเน่าที่หมักด้วยกล้ำเชื้อบริสุทธิ์สามารถเพิ่มมูลค่าของถั่วเน่าที่หมักด้วยวิธีดั้งเดิมได้มากขึ้น โดยเฉพาะ *B. subtilis* TN51 พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรียที่มีศักยภาพสูงในการปรับปรุงคุณภาพของถั่วเน่าและยังสามารถพัฒนาการผลิตในเชิงการค้าได้ในอนาคต

The logo of Chiang Mai University is a circular emblem. In the center is a detailed illustration of an elephant standing and facing left. The elephant is surrounded by a decorative border. Below the elephant, the text "CHIANG MAI UNIVERSITY 1964" is written in a semi-circle. On either side of the elephant, there are stylized floral or sun-like symbols.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved