

■ Research Article



ชื่อบทความ (ภาษาไทย) การผลิตผงกล้าเชื้อแบคทีเรียบาซิลลัส สูตรต้นทุนต่ำสำหรับการผลิตระดับอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ชีวภาพ ชื่อบทความ (ภาษาอังกฤษ) Production of low-cost *Bacillus* inoculum powder for industrial scale production of biological animal feed.

พรรณพร กุลมา¹, สุทธิดา ปัญญาอินทร์², ณัฐกร ไชยแสน³ และ
วุฒิกร สระแก้ว^{3*}

¹ สาขาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา
น่าน , ตำบลฝายแก้ว, อำเภอภูเพียง, จังหวัดน่าน, 55000

² สาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล
ล้านนา น่าน , ตำบลฝายแก้ว, อำเภอภูเพียง, จังหวัดน่าน, 55000

³ สาขาสัตวศาสตร์และประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล
ล้านนา น่าน , ตำบลฝายแก้ว, อำเภอภูเพียง, จังหวัดน่าน, 55000

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตผงเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* TBRC 6593 (BS) ด้วยวัสดุราคาต่ำ โดยมีขอบเขตการศึกษา ดังนี้ 1 ศึกษาอาหารเหลวต้นทุนต่ำที่เหมาะสม 2 ศึกษาอาหารแข็งที่เหมาะสม 3 ศึกษาสารป้องกันเซลล์และอุณหภูมิที่เหมาะสม 4 อายุการเก็บรักษา โดยผลจากการทดสอบพบว่า อาหารเหลวต้นทุนต่ำ Molasse yeast broth (MYB) เชื้อ BS มีการเจริญสูงสุด $46.30 \pm 1.13 \times 10^7$ cfu/มิลลิลิตร. ในส่วนอาหารแข็งที่เหมาะสมที่สุด คือ รำหยาบผสมข้าวโพดป่น มีการเจริญสูงสุด คือ $794.67 \pm 3.51 \times 10^7$ cfu/กรัม สำหรับขั้นตอนการทำให้แห้ง พบว่า ช่วงอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการอบแห้ง โดยใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารป้องกันเซลล์ สามารถเก็บรักษาผงเชื้อได้นาน 6 เดือน

คำสำคัญ: ผงเชื้อ, บาซิลลัส, อาหารต้นทุนต่ำ

Abstract

The purpose of this research is to study the production of *Bacillus subtilis* TBRC 6593 (BS) inoculum powder by low-cost material. The scope of study is as follow; 1 Study appropriate low-cost media broth. 2 Study appropriate solid media. 3 Study cell protective substance and appropriate temperature. 4 shelf life. The results found that the low-cost media broth, Molasses Yeast Broth (MYB), had the highest growth at $46.30 \pm 1.13 \times 10^7$ cfu/ml. As for the most suitable solid media, bran mixed with cornmeal, it had the highest growth at $794.67 \pm 3.51 \times 10^7$ cfu/g. For the process of making dry powder, it was found that the temperature rang of 50 to 60 degrees Celsius was suitable for drying. Using rice flour as a cell protection agent and it could be stored for 6 months.

Keywords: inoculum powder, *Bacillus*, low cost media,

Received:
23 September 2024
Revised:
27 December 2025
Accepted:
27 December 2025
Published:
29 December 2025

***Corresponding
Author:**
phannaphon_kunlama
@hotmail.com

Copyright:
© Rajamangala
University of
Technology Lanna.
All right reserved

ISSN
Print: 2586-8500
Electronic: 2586-8632

1. บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสัตว์มีแนวโน้มเป็นไปในรูปแบบการนำเศษวัสดุทางการเกษตร ไม่ว่าจะเป็นฟางข้าว เปลือกข้าวโพด หรือ พืชที่ก่อปัญหาทางสิ่งแวดล้อมอย่างผักตบชวา นำมาย่อยสลายและผ่านกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ได้เป็นอาหารหมักชีวภาพที่ให้คุณค่าสารอาหารที่สูงขึ้น การใช้จุลินทรีย์มาปรับปรุงคุณภาพวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรจะสามารถเพิ่มการใช้ประโยชน์อาหารเหลือและเพิ่มปริมาณโปรตีนในอาหารสัตว์ได้

แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (BS) เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ใช้เป็นสารเสริมชีวนะเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะในสัตว์ได้ ไม่ก่อโรค และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อย การดูดซึมสารอาหาร เพิ่มสมมูลจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร การเพิ่มผลผลิตและคุณภาพน้ำนมในโค นอกจากนี้แบคทีเรียนี้สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ (จิระศักดิ์ และคณะ, 2565) จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถผลิตเชิงการค้าได้

สำหรับการผลิตเชิงการค้า การทำกล้ำเชื้อแบบผงจะมีความสะดวกและง่ายต่อการใช้งานทั้งสำหรับเกษตรกรที่ต้องการผลิตอาหารหมักชีวภาพเองและภาคอุตสาหกรรมที่ต้องการผลิตผงเชื้อเชิงพาณิชย์ ซึ่งการศึกษากระบวนการผลิตผงเชื้อในระดับห้องปฏิบัติการโดยปกติจะมีการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน เช่น Nutrient broth แล้วปั่นเหวี่ยงเก็บเฉพาะเซลล์ ซึ่งจะได้น้ำปริมาณน้อย รวมถึงการทำให้แห้งทั้งแบบด้วยวิธีอุณหภูมิต่ำแต่จะใช้เวลานาน และแบบ Spray dry แต่มีราคาค่อนข้างสูง (สุวิษฐา และคณะ, 2565) ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการผลิตภาคอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ในเชิงพาณิชย์ ดังนั้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยครั้งนี้ ที่มุ่งประสงค์ศึกษาหาสูตรต้นทุนต่ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงแบคทีเรีย BS และวัตถุดิบทางการเกษตรราคาถูกที่สามารถใช้เลี้ยงขยายเชื้อ กระบวนการทำให้แห้งด้วยวิธีสเปรย์แห้งและอุณหภูมิอบแห้งที่เหมาะสม รวมถึงอายุการเก็บผงเชื้อ

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการผลิตผงกล้ำเชื้อบาซิลลัสโดยใช้วัตถุดิบที่มีต้นทุนต่ำ

3. แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

โดยพื้นฐานในห้องปฏิบัติการในการทำผงกล้ำเชื้อ BS จะเริ่มต้นด้วยการเลี้ยงเชื้อตั้งต้นในอาหาร Nutrient agar เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อ และเป็นขั้นตอนแรกในการกระตุ้นให้เชื้อเจริญอยู่ในระยะ lag เพื่อพร้อมจะเจริญเติบโต จากนั้นจะเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ให้ได้ปริมาณมากอย่างน้อย 10^7 - 10^8 cfu/มิลลิลิตร ในการผลิตผงกล้ำเชื้อจะใช้วิธีสเปรย์แห้งเซลล์ที่สามารถป้องกันเซลล์ลดอัตราการตายจากกระบวนการทำให้แห้งด้วยความร้อน เช่น สาร Carboxy methylcellulose (CMC) พงทาคัส นมผงพร่องมันเนย เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้หากนำมาใช้ผลิตภาคอุตสาหกรรมถือว่ามีราคาค่อนข้างสูง สำหรับกระบวนการทำให้แห้งจะมีทั้งการทำให้แห้งด้วยอุณหภูมิต่ำ เช่น การผึ่งในที่ร่ม แต่ต้องใช้เวลานาน การทำให้แห้งด้วยวิธี spray dry ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ เชื้อมีอัตราการรอดชีวิตสูง แต่เครื่องมือ spray dry มีราคาค่อนข้างแพง วิธีนี้จะเหมาะกับการทำผงแห้งที่เป็นอาหาร (สิรินันท์, 2563; หนึ่ง และ พรรณลดา 2557)

สำหรับงานวิจัยครั้งนี้มีกรอบแนวคิดในการใช้วัสดุการผลิตกล้ำเชื้อที่มีราคาถูก ใช้วัสดุทางการเกษตรที่มีราคาค่อนข้างต่ำ โดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Nutrient agar เพื่อตรวจสอบความบริสุทธิ์ของเชื้อและกระตุ้นให้เชื้อพร้อมเจริญ จากนั้นเริ่มเลี้ยงในอาหารเหลวที่ต้นทุนต่ำ เช่น ใช้กากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้สารสกัดยีสต์เป็นแหล่งโปรตีน วิตามิน ที่จำเป็น การสารเคมามีราคาถูกอย่างเช่น

โพแทสเซียมฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสเฟตสำหรับสร้างพลังงานเอทีพี ใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน จากนั้นเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์อีกขั้นตอนด้วยการเลี้ยงในอาหารแข็งด้วยวัสดุทางการเกษตร ซึ่งขั้นตอนอาหารแข็งนี้จะช่วยทำให้เชื้อมีการเจริญเพิ่มขึ้น จากนั้นจึงทำแห้งด้วยการใช้วัสดุป้องกันเซลล์ด้วย แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แล้วอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่สามารถทำให้ผงกล้ำแห้งได้โดยใช้เวลาอย่างน้อย 3-5 ชั่วโมง และเป็นช่วงอุณหภูมิที่เชื่อว่าจะสามารถทนได้และมีชีวิตรอด จากนั้นจึงทดสอบอายุการเก็บผงเชื้อเพื่อทราบระยะเวลาที่จะสามารถใช้ผงเชื้อได้ (ภาวนา และคณะ, 2564; สิรินันท์, 2563; หนึ่ง และ พรรณลดา, 2557)

4. วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อ *Bacillus subtilis* TBRC 6593 จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

เลี้ยงเชื้อ BS บนอาหาร Nutrient agar (Himedia, India) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นชะเซลล์ด้วยน้ำกลั่นเก็บในขวดปราศจากเชื้อไว้สำหรับการทดสอบ

1 ศึกษาอาหารเหลวต้นทุนต่ำที่เหมาะสม

อาหารเหลวทดสอบ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ 1. BUU2D (กากน้ำตาล 40 กรัม สารสกัดยีสต์ 5 กรัม $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 5 กรัม K_2HPO_4 3.6 กรัม KH_2PO_4 3 กรัม $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1 กรัม น้ำ 1 ลิตร) (สิรินันท์, 2563) 2. Molasse Yeast Broth (MYB; กากน้ำตาล 20 กรัม สารสกัดยีสต์ 0.5 กรัม K_2HPO_4 0.05 กรัม KH_2PO_4 0.15 กรัม น้ำ 1 ลิตร) (หนึ่งและพรรณลดา, 2557) 3. Molasse Yest Broth ใช้ข้าวขาว 1 ลิตร แขนน้ำ 4. Nutrient Yeast Broth (NYB; สารสกัดเนื้อ 3 กรัม เปปโตน 5 กรัม สารสกัดยีสต์ 2 กรัม กลูโคส 2.5 กรัม K_2HPO_4 2 กรัม KH_2PO_4 0.5 กรัม น้ำ 1 ลิตร) ถ่ายเชื้อ BS 10 มิลลิลิตรลงอาหารเหลว 100 มิลลิลิตร บ่มในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี Total plate count (FDA, 2001)

2 ศึกษาอาหารแข็งที่เหมาะสม

อาหารแข็งทดสอบ จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ 1. รำหยาบ 2. รำหยาบผสมปลายข้าวเจ้า 3. รำหยาบผสมปลายข้าวเหนียว 4. รำหยาบผสมข้าวโพดป่น ถ่ายเชื้อ BS 40 มิลลิลิตรลงอาหารแข็ง 100 กรัม บ่มในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี Total plate count (FDA, 2001)

3 ศึกษาสารป้องกันเซลล์และอุณหภูมิที่เหมาะสม

สารป้องกันเซลล์ทดสอบ 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ (ชุดควบคุม) แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว โดยถ่ายเชื้อ BS 40 มิลลิลิตรลงอาหารแข็ง 100 กรัม บ่มในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นคลุกอาหารแข็งด้วยสารป้องกันเซลล์ทดสอบ และทดสอบอบแห้งด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือจนกว่าผงเชื้อแห้ง นับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี Total plate count (FDA, 2001)

4 อายุการเก็บรักษา

นำตัวอย่างผงเชื้อ BS 2 ตัวอย่าง คือ ผงเชื้อที่ผสมน้ำ และ ผงเชื้อที่คลุกแป้งข้าวเจ้า เก็บในถุงพลาสติก สภาวะอุณหภูมิห้อง หาอายุการเก็บรักษาที่อายุ 1 - 6 เดือน นับจำนวนจุลินทรีย์ด้วยวิธี Total plate count (FDA, 2001)

5. ผลการวิจัย

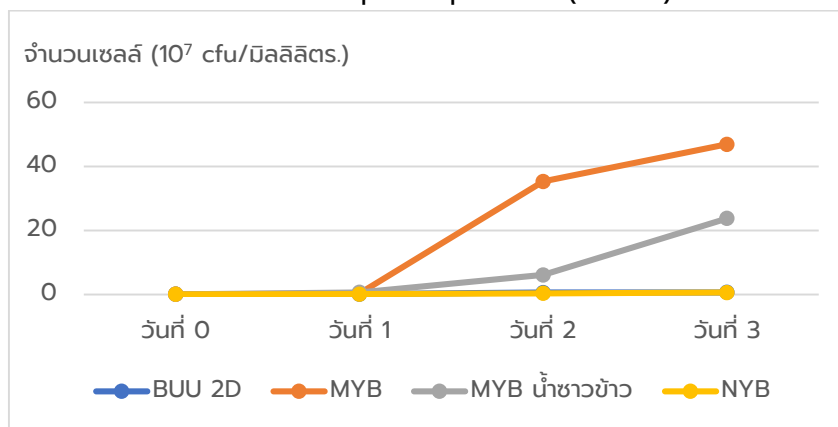
1 ศึกษาอาหารเหลวต้นทุนต่ำที่เหมาะสม

จากผลการทดสอบ (ตารางที่ 1 รูปที่ 1) พบว่า BS เริ่มเพิ่มจำนวนอย่างมาก หลังการเลี้ยงวันที่ 2 และเมื่อครบ 3 วัน อาหารเหลว MYB สามารถให้จำนวน แบคทีเรียมากที่สุด คือ $46.30 \pm 1.13 \times 10^7$ cfu/มิลลิลิตร และมีราคาต้นทุนถูกที่สุด คือ 2.12 บาท/ลิตร รองลงมาคือ MYB ผสมน้ำข้าวข้าว มีแบคทีเรีย $23.75 \pm 0.03 \times 10^7$ cfu/มิลลิลิตร. ส่วนอาหาร BUU2D และ NYB แบคทีเรีย BS มีการเจริญเติบโต ค่อนข้างน้อยกว่า

ตารางที่ 1 จำนวนแบคทีเรียในอาหารเหลวต้นทุนต่ำ (หน่วย: cfu/มิลลิลิตร)

อาหารทดสอบ	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	ต้นทุน (บาท/ลิตร)
BUU2D	$0.07 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.11 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.6 \pm 0.10 \times 10^7$	$0.63 \pm 0.01^b \times 10^7$	24.56
MYB	$0.06 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.33 \pm 0.01 \times 10^7$	$35.3 \pm 0.51 \times 10^7$	$46.30 \pm 1.13^d \times 10^7$	2.12
MYB น้ำข้าวข้าว	$0.05 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.64 \pm 0.01 \times 10^7$	$6.07 \pm 0.06 \times 10^7$	$23.75 \pm 0.03^c \times 10^7$	2.12
NYB	$0.04 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.12 \pm 0.01 \times 10^7$	$0.34 \pm 0.02 \times 10^7$	$0.62 \pm 0.02^a \times 10^7$	36.23

หมายเหตุ ^{abcd} Mean in the same row with different superscript differ ($P < 0.05$)



รูปที่ 1 จำนวนเชื้อ BS ในอาหารเหลวต้นทุนต่ำ

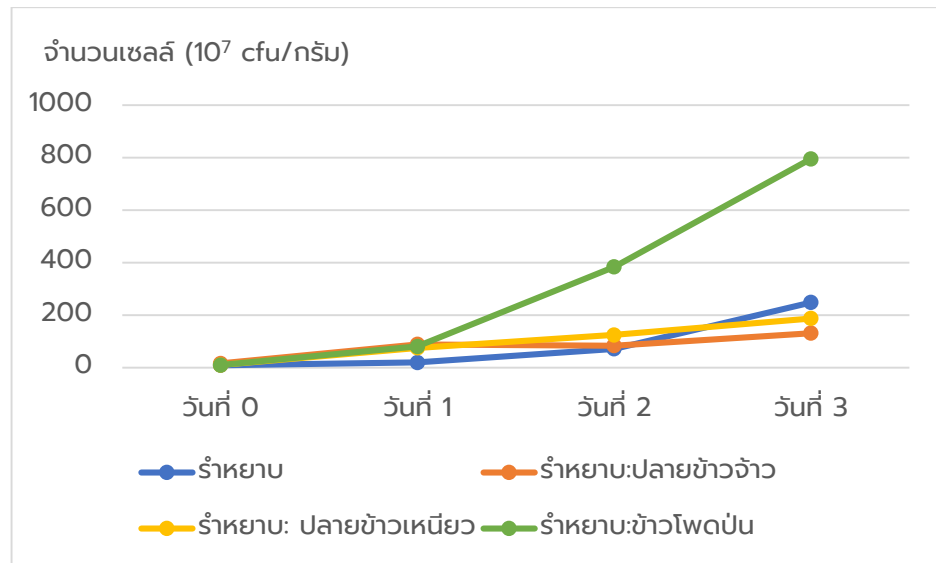
2 ศึกษาอาหารแข็งที่เหมาะสม

จากผลการทดสอบอาหารแข็ง (ตารางที่ 2 รูปที่ 2) พบว่า อาหารแข็งสูตร รำหยาบผสมข้าวโพดป่น มีเพิ่มจำนวนได้มากที่สุดคือ $794.67 \pm 3.51 \times 10^7$ cfu/กรัม รองลงมาคือ รำหยาบอย่างเดียว มีจำนวนเซลล์ $248.67 \pm 1.15 \times 10^7$ cfu/กรัม

ตารางที่ 2 จำนวนแบคทีเรียในอาหารแข็ง (หน่วย: cfu/กรัม)

อาหารทดสอบ	วันที่ 0	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	ราคาต้นทุน (บาท/กิโลกรัม)
รำหยาบ	$8.67 \pm 0.31 \times 10^7$	$19.37 \pm 0.58 \times 10^7$	$70.33 \pm 0.57 \times 10^7$	$248.67 \pm 1.15^b \times 10^7$	5
รำหยาบ: ปลายข้าวข้าว	$15.67 \pm 1.76 \times 10^7$	$88.33 \pm 1.53 \times 10^7$	$83.50 \pm 1.50 \times 10^7$	$131.00 \pm 2.00^d \times 10^7$	12.5
รำหยาบ: ปลายข้าวเหนียว	$9.75 \pm 0.10 \times 10^7$	$75.33 \pm 2.52 \times 10^7$	$124.33 \pm 0.58 \times 10^7$	$187.67 \pm 2.08^c \times 10^7$	12.5
รำหยาบ: ข้าวโพดป่น	$9.17 \pm 0.85 \times 10^7$	$80.44 \pm 1.50 \times 10^7$	$383.89 \pm 6.00 \times 10^7$	$794.67 \pm 3.51^a \times 10^7$	9

หมายเหตุ ^{abcd} Mean in the same row with different superscript differ ($P < 0.05$)



รูปที่ 2 จำนวนเชื้อ BS ในอาหารแข็ง

3 ศึกษาสารป้องกันเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสม

จากการทดสอบสารป้องกันเชื้อลบล้างกับอุณหภูมิในการอบแห้งที่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 3) พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการอบแห้งผงกล้าเชื้อ คือ อุณหภูมิระหว่าง 50-60 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเกิน 70 องศาเซลเซียส ซึ่งจากผลการทดสอบเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นปริมาณเชื้อจะลดลง โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจะคงมีปริมาณเชื้อเหลือน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสอย่างชัดเจนทั้งในชุดควบคุม ชุดแป้งข้าวเจ้า และชุดแป้งข้าวเหนียว ทั้งนี้การทำให้แห้งด้วยวิธีอบลมร้อนนั้น อุณหภูมิที่ต่างกันมีผลต่อค่า Water activity (A_w) ซึ่งเมื่อค่า A_w น้อยกว่า 0.6 จะถือว่าอาหารนั้นแห้ง และจากงานวิจัยทดสอบการทำให้แห้งเชื้อโพรไบโอติกที่เลี้ยงด้วยรำข้าวอบแห้งที่ 55 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง มีค่า A_w ประมาณ 0.50 ปรากฏว่าไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติก (สโรชา และคณะ, 2567)

ส่วนสารป้องกันเชื้อ พบว่า ผงกล้าเชื้อที่เป็นชุดควบคุมไม่ใส่สารป้องกันเชื้อมีค่าจำนวนจุลินทรีย์สูงกว่าผงกล้าเชื้อที่ผสมแป้ง โดยผงกล้าเชื้อผสมแป้งข้าวเหนียวให้ค่าจำนวนจุลินทรีย์มากกว่าผงกล้าเชื้อผสมแป้งข้าวเจ้าอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้ไม่ว่าจะเป็นแป้งข้าวเจ้าหรือแป้งข้าวเหนียวต่างเป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับแบคทีเรีย ช่วยในการยึดเกาะเซลล์ ป้องกันเชื้อจากความร้อนในขั้นตอนกระบวนการทำให้แห้ง และเมื่อแป้งผสมกับเซลล์แขวนลอยของแบคทีเรียที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเมื่อนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิสูง แป้งจะมีลักษณะเป็นฟิล์มพลาสติก (แป้งเจลลาตไนซ์) ซึ่งจะช่วยให้เชื้อและป้องกันเชื้อจากความร้อนได้ สำหรับแป้งข้าวเหนียวจะมีอะไมโลเพกตินสูงกว่าแป้งข้าวเจ้า จึงเกิดการพองตัวและเหนียวหนึบกว่าแป้งข้าวเจ้า มีผลทำให้แป้งข้าวเหนียวช่วยป้องกันเชื้อจากความร้อนได้ดีกว่าแป้งข้าวเจ้า (บุญญวดี และคณะ, 2564) จำนวนเชื้อหลังผ่านการอบแห้งที่ผสมกับแป้งข้าวเหนียวจึงมีจำนวนเชื้อมากกว่าแป้งข้าวเจ้า แต่ด้วยราคาแป้งข้าวเหนียวสูงกว่าแป้งข้าวเจ้า 9 บาทต่อกิโลกรัม จึงเลือกทดสอบต่อโดยใช้แป้งข้าวเจ้าเป็นสารป้องกันเชื้อ

ตารางที่ 3 จำนวนแบคทีเรียในผงเชื้อเมื่อมีใช้สารป้องกันเซลล์ และอบแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (หน่วย: cfu/กรัม)

อาหารทดสอบ	จำนวนเซลล์หลังการอบแห้งที่อุณหภูมิ (cfu/กรัม)			ราคา (บาทต่อกิโลกรัม)
	50 °ซ	60 °ซ	70 °ซ	
ไม่ใส่สารป้องกัน (ชุดควบคุม)	171.67±0.58 x10 ⁷	nt	129.67±1.53 x10 ⁷	0.75
แป้งข้าวเจ้า	35.50±0.50 x10 ⁷	41.00±1.00 ^b x10 ⁷	30.33±0.58 x10 ⁷	36
แป้งข้าวเหนียว	120.33±1.53 x10 ⁷	78.33±0.58 ^c x10 ⁷	18.50±0.50 x10 ⁷	45

หมายเหตุ ^{abc} Mean in the same row with different superscript differ (P<0.05)

nt = not test

4 อายุการเก็บรักษา

จากผลการทดสอบสารป้องกันเซลล์ ได้เลือกพวงกล่าเชื้อชุดควบคุม และพวงกล่าเชื้อผสมแป้งข้าวเจ้า มาทดสอบการเก็บรักษา เป็นเวลา 6 เดือน เนื่องด้วยเพื่อพิจารณาถึงต้นทุนราคาแป้งข้าวเจ้า 36 บาทต่อกิโลกรัม มีราคาถูกกว่าแป้งข้าวเหนียว 45 บาทต่อกิโลกรัม และผลการตรวจอายุการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (ตารางที่ 4) พบว่า พวงกล่าเชื้อที่คลุกกับแป้งข้าวเจ้าสามารถเก็บรักษาจำนวนเซลล์ได้นานถึง 6 เดือน

ตารางที่ 4 อายุการเก็บรักษา 6 เดือน

อายุการเก็บรักษา (เดือน)	จำนวนเชื้อในสารป้องกันเซลล์ (cfu/กรัม)	
	น้ำ	แป้งข้าวเจ้า
0	1.50 x10 ⁷	2.90 x10 ⁷
3	0.38 x10 ⁷	3.50 x10 ⁷
4	ไม่พบ	6.70 x10 ⁷
5	ไม่พบ	7.45 x10 ⁷
6	ไม่พบ	8.00 x10 ⁷

6. การอภิปรายผล

1 ศึกษาอาหารเหลือต้นทุนต่ำที่เหมาะสม

จากผลจำนวนเซลล์แบคทีเรียเมื่อเลี้ยงเป็นวันที่ 3 อาหารเหลือ พบว่า อาหารเหลือ MYB มีจำนวนเซลล์สูงที่สุด พิจารณาสูตรอาหาร (ตารางที่ 5) แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ กากน้ำตาล ปริมาณที่ใช้คือ 20 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็นร้อยละ 2 ทั้งนี้แหล่งคาร์บอนมีความสำคัญอย่างยิ่งเพราะจุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลในการสร้างพลังงานและสร้างองค์ประกอบของเซลล์ แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ สารสกัดยีสต์ ด้วยเพราะสารสกัดยีสต์จะมีวิตามินบีปริมาณมากและมีสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญของเซลล์ แหล่งฟอสเฟตยังเป็นธาตุที่จำเป็นสำหรับการสร้างพลังงานเอทีพี ทั้งนี้มีรายงานวิจัยผลหั่วเชื้อจุลินทรีย์เชิงอุตสาหกรรม มีการใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 2 ใช้แหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.25-1 (ภาวนา และคณะ, 2564)

ตารางที่ 5 องค์ประกอบสูตรอาหารเหลว

สูตรอาหารเหลว (กรัม/ลิตร)		BUU 2 D	MYB	MYB น้ำข้าวข้าว	NBY
แหล่ง	กากน้ำตาล	40	20	20	-
คาร์บอน	กลูโคส	-	-	-	2.5
แหล่ง	สารสกัดยีสต์	5	0.5	0.5	2
ไนโตรเจน	สารสกัดเนื้อ	-	-	-	3
	เปปโตน	-	-	-	5
	(NH ₄) ₂ SO ₄	5	-	-	-
แหล่งฟอสเฟต	K ₂ HPO ₄	3.6	0.05	0.05	2.0
	KH ₂ PO ₄	3.0	0.15	0.15	0.5
จำนวนเซลล์ (cfu/มิลลิลิตร)		0.63 x10 ⁷	46.90x10 ⁷	23.75 x10 ⁷	0.62 x10 ⁷
ราคาอาหารเลี้ยงเชื้อ (บาท/ลิตร)		24.56	2.12	2.12	36.23

และเมื่อพิจารณาราคาต้นทุนต่อลิตร (ตารางที่ 1) อาหาร MYB มีราคาต้นทุนต่ำที่สุด คือ 2.12 บาทต่อลิตร เมื่อเทียบกับอาหารมาตรฐาน NBY ที่มีราคาสูงถึง 36.23 บาทต่อลิตร ซึ่งหากมีการพัฒนาผลิตผงเชื้อในรูปแบบอุตสาหกรรม สูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุด คือ สูตร MYB

2 ศึกษาอาหารแบคทีเรียที่เหมาะสม

จากผลการทดสอบสูตรอาหารแบคทีเรีย (ตารางที่ 2) พบว่า สูตรร่ายยาบผสมข้าวโพดป่นสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์ได้มากที่สุดคือ 794.67±3.51 x 10⁷ cfu/กรัม มีราคาต้นทุน 9 บาทต่อกิโลกรัม รองลงมาคือ ร่ายยาบอย่างเดียว มีจำนวนเซลล์ 248.67±1.15 x 10⁷ cfu/กรัม แต่มีราคาต้นทุน 5 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งเมื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรม หากใช้ราคาต้นทุนเป็นที่เกณฑ์กำหนด สูตรร่ายยาบอย่างเดียวจะเหมาะสมที่สุด แต่หากคำนึงถึงปริมาณจำนวนจุลินทรีย์ สูตรร่ายยาบผสมข้าวโพดป่นจะเหมาะสม แม้ราคาจะสูงกว่าสูตรร่ายยาบอย่างเดียว

ในร่ายยาบมีส่วนผสมของแกลบป่น คุณค่าสารอาหารจะน้อย แต่มีเชื้อยีสสูง มีค่าโปรตีนร้อยละ 8-10 ส่วนข้าวโพดป่นมีสารอาหารหลักคือ แป้งร้อยละ 65 โปรตีนร้อยละ 8.5 ไขมันร้อยละ 3-6 วิตามินบี 1 และ บี3 สูง แคลเซียมเล็กน้อย ฟอสฟอรัสสูง และแมกนีเซียมและโพแทสเซียม (ประภาร, 2553) ซึ่งจากคุณค่าสารอาหารที่มีในร่ายยาบจะน้อยกว่าในข้าวโพดป่น สูตรอาหารที่มีข้าวโพดป่นผสมรวมด้วยจึงมีสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์สูงกว่าสูตรอาหารที่มีเพียงร่ายยาบ

3 ศึกษาสารป้องกันเชื้อและอุณหภูมิที่เหมาะสม ร่วมกับอายุการเก็บรักษา

จากผลการศึกษาสารป้องกันเชื้อ ร่วมกับอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ 3 และตารางที่ 4) พบว่า ผงเชื้อแบคทีเรียชุดควบคุมที่ไม่ได้ใส่สารป้องกันเชื้อเมื่อผ่านการอบแห้งด้วยลมร้อนแม้จะมีจำนวนแบคทีเรียอยู่จำนวนมาก แต่เมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องกลับมีอายุการเก็บรักษาสั้น สำหรับผงกล้าเชื้อแบคทีเรียที่ผสมแป้งข้าวเจ้านั้นมีอายุการเก็บรักษาได้นานถึง 6 เดือน และจำนวนแบคทีเรียไม่ได้ลดลง การที่แป้งข้าวเจ้าสามารถช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียได้ดีเพราะอนุภาคแป้งข้าวเจ้ามีขนาดเล็กประมาณ 2-5 ไมครอน และลักษณะอนุภาคมีความสม่ำเสมอจึงช่วยป้องกันเชื้อแบคทีเรียได้ดี (สุวรรณ และคณะ, 2564)

7. บทสรุป

ในกระบวนการผลิตผงกล้ำเชื้อแบคทีเรีย BS หลังจากมีการตรวจสอบความบริสุทธิ์เชื้อและกระตุ้นให้เชื้ออยู่ในสภาวะพร้อมเจริญเติบโตแล้ว ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนด้วยอาหารเหลวต้นทูนต่ำด้วยอาหารเหลวสูตร MYB มีต้นทูน 2.12 บาทต่อลิตร เพิ่มจำนวนเซลล์แบคทีเรียในอาหารแข็งสูตรรำหยาบผสมข้าวโพดป่น ต้นทูน 9 บาทต่อกิโลกรัม จากนั้นคลุกด้วยแป้งข้าวเจ้า ต้นทูน 36 บาทต่อกิโลกรัม ก่อนอบแห้งที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาเชื้อได้นานอย่างน้อย 6 เดือน รวมต้นทุนทั้งหมดเป็นเงิน 47.12 บาทต่อกิโลกรัม

8. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณการทำวิจัยจากบริษัท ไบโอแอ็กซ์เซล จำกัด และขอขอบคุณสำนักงานวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ในการสนับสนุนเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา น่าน ในการสนับสนุนสถานที่ทำวิจัย

9. เอกสารอ้างอิง

- จิระศักดิ์ ชอบแต่ง, อรวิมล แก้วเกลี้ยง, วรณา อ่างทอง, รำไพ นามสี และ ปฐมา บุตรชา. (2565). ผลการใช้จุลินทรีย์ *Bacillus subtilis* เป็นโปรไบโอติกต่อลักษณะทางชีวเคมีในกระเพาะรูเมน การย่อยสลายในกระเพาะรูเมนของวัตถุดิบอาหารสัตว์และสัมประสิทธิ์การย่อยได้ของโภชนะในโคเนื้อ การประชุมสัมมนาการพัฒนาอาหารสัตว์ประจำปี 2565 สืบค้นจาก <https://nutrition.dld.go.th/nutrition/index.php/2015-08-06-08-47-33/2417-65>.
- บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม และ วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย. (2564). การใช้ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิชีวนะควบคุมโรคผื่นแดงของเงาะพันธุ์โรงเรียน. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. สืบค้นจาก : <https://www.doa.go.th/plan/wp-content/uploads/2021/05/1254A1.pdf>.
- ประกาศ ธาราฉาย. (2553). บทที่ 5 วัตถุดิบอาหารสัตว์. สืบค้นจาก http://www.as2.mju.ac.th/E-Book/t_prapakorn/21-06-53/8C.pdf
- ภาวนา ลิกขานนท์, สุปรานี มั่นหมาย และ อธิปัติ คลังบุญครอง. (2564). ศึกษาการผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์ในรูปแบบอุตสาหกรรม. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. สืบค้นจาก: <https://www.doa.go.th/plan/wp-content/uploads/2021/05/323.pdf>
- สโรชา วิชาสิทธิ์, นกพาร์ท พ่วงอินทร์, รังสรรค์ เจริญสุข, วิโรจน์ ลิขิตตระกูลวงศ์, ทศพร อินเจริญ และ นรภัทร หวันเหลี่ยม. (2567). ผลของอุณหภูมิในการอบแห้งต่ออัตราการรอดชีวิตของโปรไบโอติกที่ถูกเลี้ยงด้วยรำข้าว. วารสารเกษตร SUPPL. 2: 515-520.
- สวรรยา ปัญญาอินทร์, วรณรัตน์ เฉลิมแสนยากร, ชนภัทร ผดุงอรรถ และ ลักษมี หมีนศรีธาราม. (2564). การพัฒนารูปแบบการผลิตแบคทีเรียน้ำส้มสายชูสำเร็จรูปเพื่อการผลิตสับปะรดไซเดอร์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 39(2) : 141-147.
- สิรินันท์ สิริชัย. 2563. การพัฒนาสูตรอาหารผลิตกล้ำเชื้อเพื่อลดต้นทุนกระบวนการผลิตเอทานอลในระดับ อุตสาหกรรม. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

- สุชาติ สงวนพันธุ์, ภาคอร อัครมธุรากุล และ นวลจันทร์ พารักษา. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพของสารเสริมชีวเน (*Bacillus subtilis*) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและผลต่อสมรรถภาพการผลิตของไก่เนื้อ. วารสารแก่นเกษตร. 45(2) : 255-262.
- สุวิษฐา บัวชาติ, ประภาพร พวงพี และ นิฐวรรณ แจ่มใส. (2565). ประสิทธิภาพผงชีวภัณฑ์ *Bacillus* sp. Ks5 ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช และควบคุมเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ที่เป็นสาเหตุโรคขอบใบแห้งในข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มจร. 7(2) : 63-71.
- หนึ่ง เตียอำรุง และ พรรณลดา ติตตะบุตร. 2557. การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิตและการยืดอายุการเก็บรักษาหัวเชื้อจุลินทรีย์ชีวภาพทางการเกษตร. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- FDA. (2001). Bacteriological Analytical Manual Online, Chapter 3-4, January 2001.