

ผลของการเติม โปรตีนเอสจากแบคทีเรียที่แยกจากการหมักซีอิ๊วต่อปริมาณ โปรตีนในซีอิ๊ว



นางสาว สุภาวดี ลีโทชวลิต

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาดำเนินการตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2540

ISBN 974-638-587-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 18207698

10 ก.ย. 2546

EFFECTS OF THE ADDITION OF PROTEASE(S) FROM BACTERIA ISOLATED
FROM SOY SAUCE FERMENTATION ON PROTEIN CONTENT OF SOY SAUCE

Miss Sudawadee Leethochawalit

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology

Graduate School

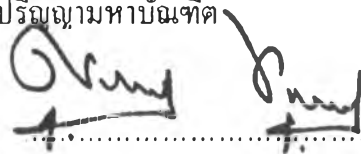
Chulalongkorn University

Academic Year 1997

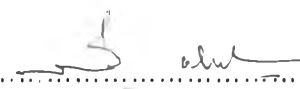
ISBN 974-638-587-9

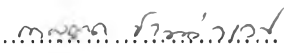
หัวข้อวิทยานิพนธ์ ผลของการเติมโปรตีนจากแบคทีเรียที่แยกจากการหมักซีอิ๊วต่อ
ปริมาณโปรตีนในซีอิ๊ว
โดย นางสาว สุดาวดี สีโทชวลิต
ภาควิชา จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช

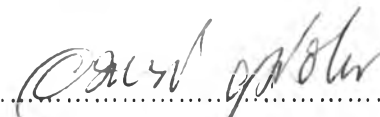
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้มหาวิทยาลัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาโทบัณฑิต

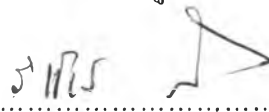

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ นายแพทย์ศุภวัฒน์ นุตวิวงศ์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์


.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุมาลี พิชญาถาวร)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา ชาญสง่าเวช)


.....กรรมการ
(ศาสตราจารย์ ดร.อมเรศ ภูมิรัตน)


.....กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร สีลาวัชรมาศ)

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสี่เหลี่ยมนี้เพียงแผ่นเดียว

ศุควาดี ลีโทชวลิต : ผลของการเติม โปรติเอสจากแบคทีเรียที่แยกจากการหมักซีอิ๊วต่อปริมาณ โปรตีนในซีอิ๊ว (EFFECTS OF THE ADDITION OF PROTEASE(S) FROM BACTERIA ISOLATED FROM SOY SAUCE FERMENTATION ON PROTEIN CONTENT OF SOY SAUCE) อ. ที่ปรึกษา : รศ.ดร. กาญจนางามสง่าเวช , 117 หน้า. ISBN 974-638-587-9.

ผลการแยกแบคทีเรียจากวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตซีอิ๊วระดับห้องปฏิบัติการ พบ *Bacillus* spp. ชอบเค็มหรือทนเค็มที่ขยับ โปรติเอสออกนอกเซลล์ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *B. laterosporus* ชอบเค็มสายพันธุ์ MO13, *B. badius* ชอบเค็มสายพันธุ์ MO31, *B. megaterium* ทนเค็ม 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ WB3, SA2 และ K1, *B. macerans* ทนเค็มสายพันธุ์ B2, *B. subtilis* ทนเค็มสายพันธุ์ SA02 *B. megaterium* K1 ขยับ โปรติเอสแอกติวิตี้นอกเซลล์มากกว่าสายพันธุ์อื่นที่ 298.2 ยูนิต.มล.⁻¹ เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร มีเค็ม 73 ที่ 30 องศาเซลเซียสบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 วัน โปรติเอสแอกติวิตี้นอกเซลล์ของ *B. megaterium* K1 ที่พีเอช 6.0 และ 20 % โซเดียมคลอไรด์เป็น 38 เปอร์เซ็นต์ของโปรติเอสแอกติวิตี้นอกเซลล์สูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ พีเอช 7.0 ผลการเติมสารละลายโปรติเอสหรือผงโปรติเอส 100 ยูนิต.มล.⁻¹ ที่แยกจาก *B. megaterium* K1 หลังการทำไลโอไฟไลส์ โดยเติมในวันแรกของระยะ โมโรมิของการหมักซีอิ๊วระดับห้องปฏิบัติการพบว่า เพิ่มค่าเฉลี่ยปริมาณโปรตีนจากเค็ม 5.2-6.8 เป็น 7.0% คิดเป็นการเพิ่มปริมาณโปรตีนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ และพบว่าโปรติเอสแอกติวิตี้นอกเซลล์ในโหลหมักลดลงถึงระดับต่ำในวันที่ 8 หลังการหมัก ดังนั้นจึงเติมผงโปรติเอสหลังการทำไลโอไฟไลส์ 250 ยูนิต.มล.⁻¹ ในวันที่ 8 หลังการหมักระยะ โมโรมิ ผลการทดลองพบว่าปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นจากเค็ม 7.4-7.8 % เพิ่มขึ้น 9.5-9.9% คิดเป็นการเพิ่มปริมาณโปรตีนประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ผลการทดลองพบว่าการกวนและไม่กวนนำหมักซีอิ๊วในระยะ โมโรมิหลังการเติมผงเอนไซม์ไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีนในซีอิ๊ว ผลการวิเคราะห์สารปนเปื้อนในซีอิ๊วพบว่าซีอิ๊วที่ผลิตได้มี ทองแดง ตะกั่ว น้อยกว่าปริมาณที่ระบุในมาตรฐานอุตสาหกรรมซีอิ๊ว ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบ สี กลิ่น รสชาติ ความใสและความชอบรวมของซีอิ๊วที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการและซีอิ๊วที่มีขายตามท้องตลาดพบว่าชนิดของผลิตภัณฑ์มีผลต่อการชอบความใสและความชอบโดยรวม ส่วนความชอบส่วนบุคคลมีผลต่อความแตกต่างในด้าน การชอบสี กลิ่นและรสชาติของผลิตภัณฑ์ซีอิ๊ว ผู้ทดสอบให้คะแนนซีอิ๊ว โปรตีนสูงในระดับใกล้เคียงกับระดับผลิตภัณฑ์ซีอิ๊วคุณภาพสูงที่มีวางขายในท้องตลาด ผลการเก็บรักษา *B. megaterium* K1 แบบไลโอไฟไลเซชันเป็นเวลา 1 ปีพบว่าการเก็บรักษา แบบไลโอไฟไลเซชันไม่มีผลต่อการเจริญและ โปรติเอสแอกติวิตี

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2540

ลายมือชื่อนิสิต ศุควาดี ลีโทชวลิต
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศ.ดร. กาญจนางามสง่าเวช
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

C826595 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: PROTEASE / SOY SAUCE / *Bacillus* sp.

SUDAWADEE LEETHOCHAWALIT : EFFECTS OF THE ADDITION OF PROTEASE(S) FROM BACTERIA ISOLATED FROM SOY SAUCE FERMENTATION ON PROTEIN CONTENT OF SOY SAUCE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KANJANA CHANSA-NGAVEJ , Ph.D.
117 pp. ISBN 974-638-587-9.

Seven halophilic or halotolerant extracellular protease-producing *Bacillus spp.* were isolated from raw materials used in lab-scale soy sauce production and identified as halophilic *B. laterosporus* MO13 and *B. badius* MO31 ; halotolerant *B. megaterium* 3 strains, WB3, SA2, and K1, halotolerant *B. macerans* B2 and *B. subtilis* SA02. *B. megaterium* K1 was found to exhibit the most extracellular protease activity of 298.2 unit.ml⁻¹ when grown in medium 73 at 30 °C , 200 rpm , for 2 days . The relative proteolytic activity at pH 6.0 and 20 %NaCl of *B. megaterium* K1 was found to be 38 % of the maximum protease activity in medium 73 with no sodium chloride , pH 7.0. The addition of 100 unit.l⁻¹ of either protease solution or lyophilised protease(s) from *B. megaterium* K1 at the first day of the *moromi* stage of lab - scale soy sauce production resulted in an increase of protein content from 5.2-6.8% to 7.0 % which was approximately a 20 % increase . Proteolytic activities in the soy sauce fermentation broth were found to drop to a low level 8 days after the start of the *moromi* stage . The addition of 250 unit.l⁻¹ lyophilised protease(s) from *B. megaterium* K1 at the eighth day of the *moromi* stage resulted in an increase of protein content from 7.4-7.8% to 9.5-9.9 % which represented approximately a 30 % increase in soy sauce protein content. Stirring and non-stirring of the mash at the *moromi* stage did not lead to different results. Negligible amounts of Copper and Zinc were found in the soy sauce produced. Analysis of variance of the mean hedonic scores revealed that types of soy sauce are the main source of variations for differential preference in the clarity and the overall liking of the soy sauce products. Personal preferences were found to be the major contributor to variations in the preferences for color , aroma, and taste of the soy sauces. Sensory evaluation of the soy sauce products revealed favorable responses to the lab-scale produced soy sauce when compared with other high- quality soy sauces available in the markets. *B. megaterium* K1 was lyophilised and kept for one year with no effects on growth and protease activity.

ภาควิชา.....จุลชีววิทยา
สาขาวิชา.....จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา..... 2540

ลายมือชื่อนิสิต.....ศุภชาติ ลิ้มทวีธา
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....นางสาว ชัยขวัญใจ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....-

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กาญจนา ชาญสง่าเวช ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการทำวิทยานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พิษญาญกูร ที่กรุณาเป็นประธานคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ศาสตราจารย์ ดร. อมเรศ ภูมิรัตน และรองศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร ถีลาวัชรมาศ ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ พร้อมทั้งให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ คุณอัมพร อึ้งประกรณ์แก้ว และ คุณแก้ว ขจรไชยกุล และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษาและวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมาณตะกั่ว ปริมาณทองแดงและปริมาณอาร์ซีนิกในตัวอย่างซีอิ๊ว ขอบคุณ คุณธนิต สิงหนุญพงษ์ คุณสุทธิรักษ์ นิยมฤทธิ์ คุณกนกวรรณ ศรีนิธิ ที่ช่วยเรื่องเครื่องมือเครื่องแก้ว คุณบุญธรรม จำสุวรรณ์ และ คุณทองรวบ สุพารี ที่ช่วยกรุณาซ่อมกระดังและตู้วางโหลหมักซีอิ๊ว

สุดท้ายผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ขอบคุณ พี่ น้อง เพื่อนๆ ที่ช่วยให้กำลังใจ

สารบัญ

| | หน้า |
|---------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | ง |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | จ |
| กิตติกรรมประกาศ..... | ฉ |
| สารบัญ..... | ช |
| สารบัญตาราง..... | ซ |
| สารบัญรูป..... | ฅ |
| บทที่ | |
| 1 บทนำ | 1 |
| 2 ตรวจสอบเอกสาร | 3 |
| 3 วิธีการทดลอง..... | 26 |
| 4 ผลการทดลอง | 35 |
| 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง..... | 60 |
| รายการอ้างอิง..... | 64 |
| ภาคผนวก ก..... | 70 |
| ภาคผนวก ข..... | 76 |
| ภาคผนวก ค..... | 80 |
| ภาคผนวก ง..... | 113 |
| ประวัติผู้เขียน..... | 117 |

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|--|------|
| ตารางที่ 1 การแบ่งประเภทของซีอิ๊วตามลักษณะทางเคมี..... | 3 |
| ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การผลิตซีอิ๊วญี่ปุ่นชนิดต่างๆในประเทศญี่ปุ่น..... | 4 |
| ตารางที่ 3 สมบัติบางประการของซีอิ๊วญี่ปุ่น..... | 5 |
| ตารางที่ 4 โปรตีนเอสจาก <i>Bacillus</i> สายพันธุ์ต่างๆ..... | 22 |
| ตารางที่ 5 แบคทีเรียผลิต โปรตีนเอสที่แยกจากกระบวนการหมักซีอิ๊ว..... | 35 |
| ตารางที่ 6 ผลการจำแนกสายพันธุ์ <i>Bacillus</i> spp. ที่เจริญและผลิต โปรตีนเอส ในอาหารวุ้นสูตรมีเดียม 73 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ 73..... | 37 |
| ตารางที่ 7 จำนวนชั่วโมงที่แบคทีเรียใช้ในการเพิ่มจำนวนเข้า สู่ระยะมีดลอค..... | 39 |
| ตารางที่ 8 เปอร์เซ็นต์โปรตีนเอสแอกติวิตีที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 20 เปอร์เซ็นต์ และพีเอช 6.0 กำหนดให้แอกติวิตีสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์..... | 45 |
| ตารางที่ 9 อัตราการเพิ่มปริมาณโปรตีนและปริมาณโปรตีนในซีอิ๊วที่ผลิต ในระดับห้องปฏิบัติการหลังจากเติมโปรตีนเอสที่แยกจาก <i>B. megaterium</i> K1 ในเวลาต่างๆของการหมักระยะโมโรมิ | 48 |
| ตารางที่ 10 การหาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมในการฆ่าจุลินทรีย์โดยวิธี พาสเตอร์ไรส์..... | 53 |
| ตารางที่ 11 ปริมาณสารปนเปื้อนที่ระบุในมาตรฐานอุตสาหกรรมเปรียบ เทียบกับปริมาณที่ตรวจพบใน ซีอิ๊วที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติ การ..... | 53 |
| ตารางที่ 12 สมบัติทางเคมีของซีอิ๊วที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเติม ผงโปรตีนเอสจาก <i>B. megaterium</i> K1 250 ยูนิต์ต่อลิตรในวัน ที่ 8 ของการหมักระยะโมโรมิ..... | 54 |

สารบัญตาราง(ต่อ)

| | หน้า |
|---|------|
| ตารางที่ 13 ค่าเฉลี่ยระดับคะแนนความชอบจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของซีอิ๊ว 7 ตัวอย่าง โดยใช้ Hedonic 7 scale test (7=ชอบมาก;1= ไม่ชอบเลย)..... | 55 |
| ตารางที่ 14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระดับความชอบสีของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 57 |
| ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระดับความชอบกลิ่นของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 57 |
| ตารางที่ 16 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระดับความชอบรสชาติของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 58 |
| ตารางที่ 17 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระดับความชอบความใสของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 58 |
| ตารางที่ 18 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยระดับความชอบรวมของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 58 |
| ตารางที่ ภ1 การวิเคราะห์ปริมาณตะกั่วในซีอิ๊วที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer..... | 106 |
| ตารางที่ ภ2 การวิเคราะห์ปริมาณทองแดงในซีอิ๊วที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer..... | 107 |
| ตารางที่ ภ3 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ความชอบสีของผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 108 |
| ตารางที่ ภ4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ความชอบกลิ่นของผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 109 |
| ตารางที่ ภ5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ความชอบรสชาติของผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 110 |
| ตารางที่ ภ6 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ความชอบความใสของผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 111 |

สารบัญตาราง(ต่อ)

| | หน้า |
|--|------|
| ตารางที่ ๗ ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ความชอบรวมของ ผลิตภัณฑ์ของซีอิ๊วชนิดต่างๆ..... | 112 |
| ตารางที่ ๘ F distribution table..... | 113 |

สารบัญรูป

| | หน้า |
|--|------|
| รูปที่ 1 (ก) ขั้นตอนการผลิตโคอิฐชิโซยู โดยการหมักแบบดั้งเดิม..... | 9 |
| (ข) ขั้นตอนการผลิตชีอิ้ว ได้หัววัน..... | 11 |
| รูปที่ 2 โพรติเอสชนิดต่างๆ..... | 22 |
| รูปที่ 3 การเจริญ (ก) และการผลิตโพรติเอส (ข) บนอาหารวุ้นสูตรมีเดียม 73 ที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่างๆของแบคทีเรียที่แยกได้จากวัตถุดิบ ที่ใช้ในการผลิตชีอิ้วระดับห้องปฏิบัติการ | 36 |
| รูปที่ 4 การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย 7 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร มีเดียม 73 ที่มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ตั้งแต่ 0-20 เปอร์เซ็นต์บนเครื่อง เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 38 |
| รูปที่ 5 อัตราการเจริญจำเพาะของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวมีเดียม 73 ที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์และมีค่าพีเอชตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 40 |
| รูปที่ 6 โพรติเอสแอกติวิตีของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงในอาหาร เหลวมีเดียม 73 ที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์และมีค่าพีเอชตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 40 |
| รูปที่ 7 อัตราการเจริญจำเพาะของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวมีเดียม 73 ที่ 5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่า พีเอชตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็น เวลา 5 วัน..... | 41 |
| รูปที่ 8 โพรติเอสแอกติวิตีของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงในอาหาร เหลวมีเดียม 73 ที่ 5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์และมีค่าพีเอช ตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 41 |
| รูปที่ 9 อัตราการเจริญจำเพาะของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวมีเดียม 73 ที่ 10 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่าพี เอช ตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็น..... | 42 |

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

| | |
|---|----|
| รูปที่ 10 โพรติเอสแอคติวิตีของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงในอาหาร เหลวมีเดียม 73 ที่ 10 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่าพีเอช ตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 42 |
| รูปที่ 11 อัตราการเจริญจำเพาะของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวมีเดียม 73 ที่ 15 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่าพี เอชตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 43 |
| รูปที่ 12 โพรติเอสแอคติวิตีของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงในอาหาร เหลวมีเดียม 73 ที่ 15 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่าพีเอช ตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 43 |
| รูปที่ 13 อัตราการเจริญจำเพาะของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์เมื่อเลี้ยงใน อาหารเหลวมีเดียม 73 ที่ 20 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคลอไรด์ และมีค่าพี เอชตั้งแต่ 6.0-9.0 เขย่าที่ 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน..... | 44 |
| รูปที่ 14 ผลของโซเดียมคลอไรด์และพีเอชต่อโปรติเอสแอคติวิตีของ <i>Bacillus</i> spp. 7 สายพันธุ์ที่แยกได้ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารสูตร มี เดียม 73 ที่มีโซเดียมคลอไรด์ และพีเอชต่างๆ ที่ให้โปรติเอส แอคติวิตี สูงสุด นำส่วนใสมาทหาโปรติเอสแอคติวิตีโดยเปรียบเทียบ ให้โปรติเอสแอคติวิตีสูงสุดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์..... | 46 |
| รูปที่ 15 การตกตะกอนโปรติเอสที่ได้จาก <i>B. megaterium</i> K1 โดยใช้ แอมโมเนียมซัลเฟต..... | 47 |
| รูปที่ 16 ปริมาณโปรตีนและโปรติเอสแอคติวิตีในโหลหมักซีอิ๊วระดับห้อง ปฏิบัติการหลังจากเติม (ก)สารละลายโปรติเอส 100 ยูนิตต่อลิตร(ข) ผงโปรติเอส 100 ยูนิตต่อมิลลิลิตรในวันแรกของการหมักระยะโมโร มิ..... | 50 |

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

| | |
|--|----|
| รูปที่ 17 ปริมาณโปรตีนและโปรตีนเอสแอกติวิตีในโหลหมักระดับห้องปฏิบัติการหลังจากเติมผงโปรตีนเอส 250 ยูนิท ต่อมิลลิลิตรในวันที่แปดของการหมักระยะโมโรมิ..... | 51 |
| รูปที่18 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิบริเวณหมักซีอิ๊วในระหว่างเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2540 (ก) และ มกราคม-กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2541 (ข)..... | 51 |
| รูปที่19 ความเสถียรของโปรตีนเอสที่ได้จาก <i>B.megaterium</i> K1 เมื่อใส่ในโหลหมักซีอิ๊วระดับห้องปฏิบัติการซึ่งบรรจุอะซิเตต บัฟเฟอร์พีเอช 5.0 และ 20 เปอร์เซ็นต์เกลือสมุทร ตั้งโหลไว้กลางแจ้งในบริเวณที่หมักซีอิ๊ว..... | 52 |
| รูปที่ 20 การเจริญ (ก) และแอกติวิตี (ข)ของ <i>Bacillus megaterium</i> สายพันธุ์ K1ก่อนและหลังการเก็บรักษาเชื้อ โดยวิธีระเหิดแห้งเลี้ยงบนอาหารวุ้นสูตรมีเดียม 73 ที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน..... | 59 |
| รูปที่ ๓1 กราฟมาตรฐานไทโรซีนแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่660 นาโนเมตรกับปริมาณ..... | 80 |
| รูปที่ ๓2 การเพิ่มจำนวน(ก) และโปรตีนเอสแอกติวิตี (ข) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ B2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 81 |
| รูปที่ ๓3 การเพิ่มจำนวน(ก) และโปรตีนเอสแอกติวิตี (ข) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ WB3 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 0 %โซเดียมคลอไรด์โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 82 |
| รูปที่ ๓4 การเพิ่มจำนวน(ก) และโปรตีนเอสแอกติวิตี (ข) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ WB3 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5 %โซเดียมคลอไรด์โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 83 |

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

| | |
|---|----|
| รูปที่ ภ5 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี(จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ WB3 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบน เครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 84 |
| รูปที่ ภ6 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี (จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 85 |
| รูปที่ ภ7 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี (จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 86 |
| รูปที่ ภ8 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี (จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA2 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 87 |
| รูปที่ ภ9 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี (จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA02 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 88 |
| รูปที่ ภ10 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอกติวิตี (จ) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA02เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 89 |
| รูปที่ ภ11 การเพิ่มจำนวน(ก) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ SA02เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 90 |

การบัญชีรูป(ต่อ)

หน้า

| | |
|---|----|
| รูปที่ ๑12 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ K1 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส.. | 91 |
| รูปที่ ๑13 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ K1 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 92 |
| รูปที่ ๑14 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ K1 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 93 |
| รูปที่ ๑15 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO13 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 94 |
| รูปที่ ๑16 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO13 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 95 |
| รูปที่ ๑17 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรติเอสแอคทีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO13 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 96 |
| รูปที่ ๑18 การเพิ่มจำนวน(ก) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO13 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 15% โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่า พีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 97 |

สารบัญรูป(ต่อ)

หน้า

| | |
|---|-----|
| รูปที่ ๑19 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรตีนเอสเอคตีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO31 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 ไม่มีโซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 98 |
| รูปที่ ๑20 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรตีนเอสเอคตีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO31 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 5%โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 99 |
| รูปที่ ๑21 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรตีนเอสเอคตีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO31 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 10%โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 100 |
| รูปที่ ๑22 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรตีนเอสเอคตีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO31 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 15โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 101 |
| รูปที่ ๑23 การเพิ่มจำนวน(ก) และ โปรตีนเอสเอคตีวิตี (๗) <i>Bacillus</i> sp สายพันธุ์ MO31 เมื่อเลี้ยงในอาหารสูตรมีเดียม 73 มี 20 โซเดียมคลอไรด์ โดยมีค่าพีเอชต่างๆเลี้ยงบนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที 30 องศาเซลเซียส..... | 102 |
| รูปที่ ๑24 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณตะกั่ว โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer..... | 103 |
| รูปที่ ๑25 กราฟมาตรฐานสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณทองแดง โดยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer..... | 104 |