ผลการทดลอง

1. การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของดิน และน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการเก็บตัวอย่างน้ำ และดินจากบ่อเลี้ยงกุ้งในบริเวณอำเภอระโนด จังหวัดสงขลาและอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี จำนวนทั้งสิ้น 36 ตัวอย่าง พบว่าบ่อเลี้ยงกุ้งอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา มีค่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 7.7-8.5 และ pH ของน้ำอยู่ระหว่าง 7.9-8.4 ความเค็มของน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 26-32 ppt และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส บ่อเลี้ยงกุ้งบริเวณอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี พบว่า pH ของดินอยู่ระหว่าง 7.7-9.2 และ pH ของน้ำอยู่ระหว่าง 7.7-8.9 ความเค็มของน้ำมีค่าอยู่ในระหว่าง 21-30 ppt และอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 31-35 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 1

2. การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตทั้งหมดจากตัวอย่างดินในบ่อเลี้ยงกุ้ง

จากการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจากตัวอย่างดินในบ่อเลี้ยงกุ้งบริเวณ อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา มีค่าอยู่ระหว่าง 5.0×10^2 - 2.4×10^4 CFU/ml และในบ่อน้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 5.2×10^2 CFU/ml ส่วนในบ่อเลี้ยงกุ้งบริเวณอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี มีค่าอยู่ระหว่าง 8.3×10^3 - 3.8×10^3 CFU/ml และในบ่อน้ำทิ้งมีค่าเท่ากับ 8.4×10^3 CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 2

3. การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์เพื่อตรวจสอบลักษณะ การติดสีแกรมและการสร้างสปอร์

เชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่จะมาจากตัวอย่างดิน ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 72 จากจำนวนเชื้อทั้งหมดที่แยกได้ ส่วนที่เหลือก็เป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำ เชื้อส่วนใหญ่ที่แยกได้จะมีลักษณะรูปร่างแบบแท่งและติดสีแกรมบวก ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 58 ของเชื้อทั้งหมด ส่วนที่เหลือก็จะมีรูปร่างแบบกลมและติดสีแกรมบวก คิดเป็นร้อยละ 25 ของเชื้อทั้งหมด และรูปร่างแบบแท่งติดสีแกรมลบ คิดเป็นร้อยละ 14 นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อส่วนใหญ่ที่สร้างสปอร์จะมีรูปร่างแบบแท่ง และติดสีแกรมบวกคิดเป็นร้อยละ 55 ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของตัวอย่างดินและน้ำจากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในเขต อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา และอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี (บ่อที่ 1 - 5 จังหวัดสงขลา / บ่อที่ 6 - 10 จังหวัดปัตตานี)

ลำดับบ่อ	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	pH	ความเค็ม (ppt)	อุณหภูมิ (°C)
1	ดินทางน้ำออก	8.4	-	-
	น้ำทางน้ำออก	7.7	30	34
	ดินกลางบ่อ	8.3	-	-
	น้ำกลางบ่อ	7.9	30	33
2	ดินทางน้ำออก	8.3	-	-
	น้ำทางน้ำออก	8.5	28	32
	ดินกลางบ่อ	8.2	-	-
	น้ำกลางบ่อ	8.3	32	31
3	ดินทางน้ำออก	8.2	-	-
	น้ำทางน้ำออก	7.9	26	32
	ดินกลางบ่อ	8.4	-	-
	น้ำกลางบ่อ	7.9	31	33
4	ดินทางน้ำออก	8.2	-	-
	น้ำทางน้ำออก	8.2	28	30
	ดินกลางบ่อ	8.3	-	-
	น้ำกลางบ่อ	8.2	28	30
5	ดินบริเวณบ่อน้ำทิ้ง	7.9	-	-
	น้ำบริเวณบ่อน้ำทิ้ง	8.6	29	32

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ลำดับบ่อ	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง	pH	ความเค็ม (ppt)	อุณหภูมิ (^{o}C)
6	ดินทางน้ำออก	8.4	-	-
	น้ำทางน้ำออก	7.7	30	34
	ดินกลางบ่อ	8.3	-	-
	น้ำกลางบ่อ	7.9	30	33
7	ดินทางน้ำออก	8.0	-	-
	น้ำทางน้ำออก	7.8	21	32
	ดินกลางบ่อ	8.0	-	-
	น้ำกลางบ่อ	7.9	21	31
8	ดินทางน้ำออก	9.2	-	-
	น้ำทางน้ำออก	7.8	26	33
	ดินกลางบ่อ	8.3	-	-
	น้ำกลางบ่อ	7.7	30	34
9	ดินทางน้ำออก	8.7	-	-
	น้ำทางน้ำออก	8.4	30	32
	ดินกลางบ่อ	8.9	-	-
	น้ำกลางบ่อ	8.6	30	32
10	ดินบริเวณบ่อน้ำทิ้ง	8.3	-	-
	น้ำบริเวณบ่อน้ำทิ้ง	8.0	28	34

ตารางที่ 2 จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดจากดินในบ่อเลี้ยงกุ้งในเขต อำเภอระโนด จังหวัดสงขลา และอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี
(บ่อที่ 1 - 5 จังหวัดสงขลา / บ่อที่ 6 - 10 จังหวัดปัตตานี)

แหล่งที่เก็บตัวอย่าง	จำนวนแบคทีเรียทั้งหมด (CFU/g)
บ่อที่ 1	5.0×10^2
บ่อที่ 2	2.4×10^3
บ่อที่ 3	2.1×10^4
บ่อที่ 4	2.3×10^4
บ่อที่ 5	5.2×10^2
บ่อที่ 6	2.2×10^3
บ่อที่ 7	3.8×10^3
บ่อที่ 8	1.5×10^3
บ่อที่ 9	8.0×10^3
บ่อที่ 10	8.3×10^3

ตารางที่ 3 แบคทีเรียที่แยกได้จากดิน(S)และน้ำ(W) ในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำในเขตอำเภอระโนด จังหวัดสงขลา และอำเภอเมือง จังหวัดปัตตานี

รหัสเชื้อ	สีของโคโลนี	ลักษณะรูปร่าง	การติดสีแกรม	การสร้างสปอร์
S1	ขาว	แท่ง	บวก	+
S2	เหลืองอ่อน	แท่ง	บวก	+
S3	ขาว	กลม	บวก	-
S4	ขาว	กลม	บวก	-
S5	ขาวครีม	แท่ง	บวก	+
S6	ขาวครีม	แท่ง	บวก	+
S7	เหลือง	แท่ง	บวก	+
S8	ขาว	แท่ง	บวก	+
S9	ใส	แท่ง	ลบ	-
S10	ขาวครีม	แท่ง	บวก	+
S11	เหลือง	กลม	บวก	-
S12	ขาว	แท่ง	บวก	+
S13	ขาว	แท่ง	บวก	+
S14	เหลือง	กลม	บวก	-
S15	ใส	แท่ง	ลบ	-
S16	ใส	กลม	บวก	-
S17	ชมพู	แท่ง	บวก	+
S18	ใส	แท่ง	บวก	+
S19	ใส	แท่ง	ลบ	-
S20	เหลือง	แท่ง	บวก	-
S21	ขาว	แท่ง	บวก	+
S22	ขาว	แท่ง	บวก	+
S23	น้ำตาล	กลม	บวก	-
S24	เหลือง	แท่ง	ลบ	-
S25	ขาว	แท่ง	บวก	+

ตารางที่ 3 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	สีของโคโลนี	ลักษณะรูปร่าง	การติดสีแกรม	การสร้างสปอร์
S26	ชมพู	กลม	บวก	-
W1	ใส	แท่ง	บวก	-
W2	เหลือง	กลม	บวก	-
W3	เหลือง	แท่ง	บวก	+
W4	ขาว	แท่ง	บวก	-
W5	ขาว	แท่ง	ลบ	-
W6	ใส	แท่ง	บวก	+
W7	ใส	กลม	บวก	-
W8	ใส	แท่ง	บวก	+
W9	เหลือง	แท่ง	บวก	+
W10	ขาวครีม	แท่ง	บวก	+

หมายเหตุ + หมายถึง สร้างสปอร์

- หมายถึง ไม่สร้างสปอร์

เชื้อรหัสS1 - S21 และรหัส W1 - W7 ได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ อำเภอ ระโนด จังหวัด สงขลา

เชื้อรหัส S22 - S26 และรหัส W8 - W10 ได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งที่ อำเภอเมือง จังหวัด ปัตตานี

เชื้อรหัส S1 - S4 ได้จากตัวอย่างดินทางน้ำออก ของบ่อที่ 2

เชื้อรหัส S5 - S13 ได้จากตัวอย่างดินกลางบ่อ ของบ่อที่ 2

เชื้อรหัส S14 - S20 ได้จากตัวอย่างดินกลางบ่อ ของบ่อที่ 3

เชื้อรหัส W1 - W3 ได้จากตัวอย่างน้ำกลางบ่อ ของบ่อที่ 3

เชื้อรหัส S21 ได้จากตัวอย่างดินบริเวณบ่อน้ำทิ้ง ของบ่อที่ 5

เชื้อรหัส W4 - W7 ได้จากตัวอย่างน้ำบริเวณบ่อน้ำทิ้ง ของบ่อที่ 5

เชื้อรหัส S22 - S24 ได้จากตัวอย่างดินทางน้ำออก ของบ่อที่ 7

เชื้อรหัส W8 ได้จากตัวอย่างน้ำกลางบ่อ ของบ่อที่ 7

เชื้อรหัส S25 และ W9 ได้จากตัวอย่างดิน และ น้ำกลางบ่อ ของบ่อที่ 8

เชื้อรหัส S26 และ W10 ได้จากตัวอย่างดิน และ น้ำบริเวณบ่อน้ำทิ้ง ของบ่อที่ 10

4. การคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารอินทรีย์

4.1 การคัดเลือกเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีน

4.1.1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอาหารแข็ง

นำเชื้อที่แยกได้จากข้อ 3 จำนวน 36 สายพันธุ์ มาเลี้ยงบนอาหาร skim milk agar โดยการทำ point inoculum เป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดหาผลต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี และบริเวณใสรอบโคโลนี พบว่าเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้มี 31 สายพันธุ์คิดเป็น 86 เปอร์เซนต์ เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากดินและน้ำ และเป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกสร้างสปอร์ 20 สายพันธุ์คิดเป็น 55 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ 2 สายพันธุ์คิดเป็น 5.56 เปอร์เซนต์ แบคทีเรียรูปกลมแกรมบวก 9 สายพันธุ์คิดเป็น 25 เปอร์เซนต์ ส่วนเชื้อที่ไม่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนมี 5 สายพันธุ์คิดเป็น 14 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ (ตารางที่ 4 และ ตารางที่ 5)

เชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนได้สูงที่สุดคือ เชื้อรหัส S1, S25 และ W4 (ตารางที่ 4) ทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ จึงได้ทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มนี้มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอาหารเหลวทั้ง 3 สายพันธุ์

4.1.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนในอาหารเหลว

เมื่อนำเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ S1, S25 และ W4 ไปเลี้ยงในอาหารเหลว skim milk แล้วทดสอบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน พบว่าที่ 0 ชั่วโมง เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ยังไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน และที่ 6 ชั่วโมง เชื้อรหัส S25 มีกิจกรรมสูงสุดในขณะที่เชื้อรหัส S1 และ W4 ยังคงไม่มีกิจกรรม ที่เวลา 12 ชั่วโมง เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มีกิจกรรมใกล้เคียงกัน และเชื้อ W4 มีกิจกรรมสูงที่สุด แต่เมื่อที่เวลา 18 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มีกิจกรรมสูงที่สุด พบว่าเชื้อรหัส S1 มีกิจกรรมสูงที่สุด และมากกว่าเชื้อรหัส S25 และ W4 (รูปที่ 1)

ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อรหัส S1 มาทำการทดสอบหาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีน

.ENTRAL LIBRARY
PRINCE OF SONGKLA UNIVERSITY

ตารางที่ 4 ผลการย่อยโปรตีนของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ บนอาหาร skim milk agar ที่ pH 7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)	ผลต่าง (มิลลิเมตร)
S1	6.6	37.2	30.6
S2	4.8	31.6	26.8
S3	5.3	15.2	9.9
S4	6.7	16.8	10.1
S5	4.3	26.9	22.6
S6	4.6	31.6	27.0
S7	3.9	29.9	26.0
S8	5.0	30.9	25.9
S9	3.6	NC	0
S10	3.7	24.7	21.0
S11	3.4	13.2	9.7
S12	4.2	29.6	25.4
S13	4.5	20.8	16.3
S14	2.2	13.5	11.3
S15	2.2	NC	0
S16	2.6	9.2	6.6
S17	3.1	18.7	15.6
S18	4.2	18.0	13.8
S19	4.6	NC	0
S20	3.3	14.8	11.5
S21	2.8	29.1	26.3
S22	4.9	29.1	24.2
S23	2.2	9.2	7.0
S24	5.0	NC	0

ตารางที่ 4 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)	ผลต่าง (มิลลิเมตร)
S25	3.4	32.4	29.0
S26	5.2	11.8	6.5
W1	4.6	16.6	12.0
W2	2.9	12.4	9.5
W3	3.7	28.2	24.5
W4	4.4	32.5	28.1
W5	5.8	NC	0
W6	6.0	22.1	16.1
W7	2.0	12.5	10.5
W8	2.9	19.5	16.6
W9	3.1	16.6	13.5
W10	4.8	20.2	15.4

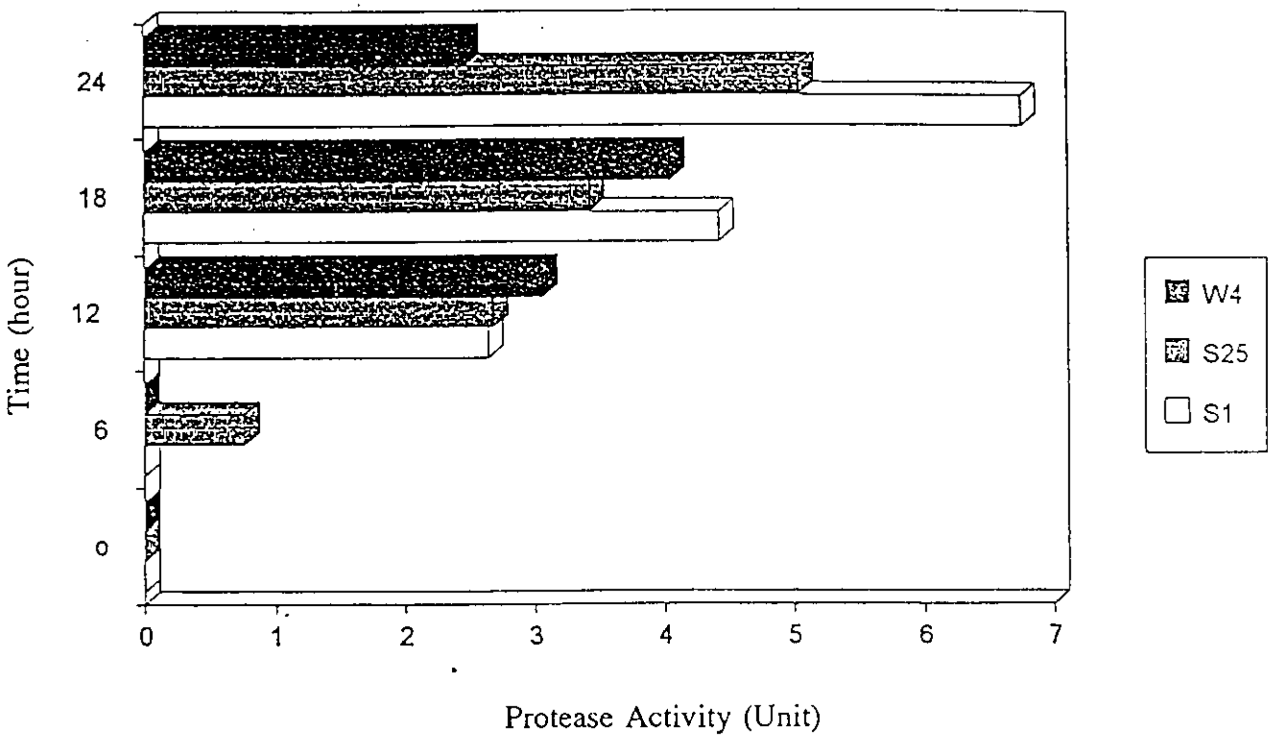
NC หมายถึง ไม่เกิดวงใส (no clear zone)

ตารางที่ 5 ลักษณะรูปร่าง การติดสีแกรม ความสามารถในการสร้างสปอร์ และการสร้างเอนไซม์ย่อยสลายโปรตีนบนอาหาร skim milk agar ของเชื้อที่แยกได้ 36 สายพันธุ์

ความสามารถในการย่อยโปรตีน*	จำนวนเชื้อที่มีรูปร่างลักษณะต่าง ๆ				
	รูปแท่งแกรมบวก สร้างสปอร์	รูปแท่งแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์	รูปกลม แกรมบวก	รูปแท่ง แกรมลบ	คิดเป็นร้อยละ
+ + + +	3	-	-	-	8.33
+ + +	10	-	-	-	27.78
+ +	7	-	-	-	19.44
+	-	2	9	-	30.56
-	-	-	-	5	13.89

* ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ ตรวจสอบได้จากการวัดผลต่างของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อ และบริเวณใสรอบโคโลนี

+ + + +	มีค่ามากกว่า	27	มิลลิเมตร
+ + +	มีค่าอยู่ระหว่าง	20-27	มิลลิเมตร
+ +	มีค่าอยู่ระหว่าง	13-20	มิลลิเมตร
+	มีค่าต่ำกว่า	13	มิลลิเมตร
-	ไม่มีบริเวณใส		



รูปที่ 1 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่เวลาต่าง ๆ ของเชื้อแบคทีเรียรหัส S1, S25 และ W4 ในอาหารเหลว skim milk ที่ pH 7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

4.2 การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้

4.2.1 การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งในอาหารแข็ง

นำเชื้อที่แยกได้จากข้อ 3 จำนวน 36 สายพันธุ์ มาเลี้ยงบนอาหาร starch agar โดยวิธี point inoculum เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งโดยใช้สารละลายไอโอดีนราดลงไปบนอาหารวัดหาผลต่างของเส้นผ่านศูนกลางโคโลนีและบริเวณใสรอบโคโลนีพบว่า เชื้อไม่เจริญในอาหาร 4 สายพันธุ์ เจริญแต่ไม่สร้างเอนไซม์ 18 สายพันธุ์เชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากทั้งดินและน้ำจากทั้งหมด 36 สายพันธุ์ เป็นแบคทีเรียที่ย่อยแป้งได้ 14 สายพันธุ์ คิดเป็น 38.9% ซึ่งได้แก่เชื้อ รหัส S1, S2, S4, S5, S6, S8, S10, S17, S18, S22, S26, W2, W8, และ W9 ดังแสดงในตารางที่ 6 เป็นแบคทีเรียรูปแท่งแกรมบวกสร้างสปอร์ 11 สายพันธุ์ และแกรมบวกรูปกลม 3 สายพันธุ์ เชื้อที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้งได้สูงที่สุด คือ S5, S2 และ S18 ตามลำดับ ทั้ง 3 สายพันธุ์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งสร้างสปอร์ทั้งสิ้น (ตารางที่ 6) จึงได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียกลุ่มนี้มาทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งในอาหารเหลว

ตารางที่ 6 ผลการย่อยแป้งของเชื้อแบคทีเรียรหัสต่าง ๆ บนอาหาร starch agar pH 7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)	ผลต่าง (มิลลิเมตร)
S1	7.00	10.75	3.75
S2	15.35	29.50	14.15
S3	8.50	NC	0
S4	17.10	28.40	11.30
S5	37.50	55.25	17.75
S6	27.25	43.60	16.33
S7	6.25	NC	0
S8	10.50	12.00	1.50
S9	3.50	NC	0
S10	55.50	64.60	9.10
S11	2.00	NC	0
S12	10.70	NC	0
S13	17.65	NC	0
S14	NG	-	-
S15	NG	-	-
S16	9.15	NC	0
S17	8.45	16.00	7.55
S18	6.00	20.30	14.30
S19	NG	-	-
S20	6.00	NC	0
S21	17.55	NC	0
S22	12.00	22.75	10.75

ตารางที่ 6 (ต่อ)

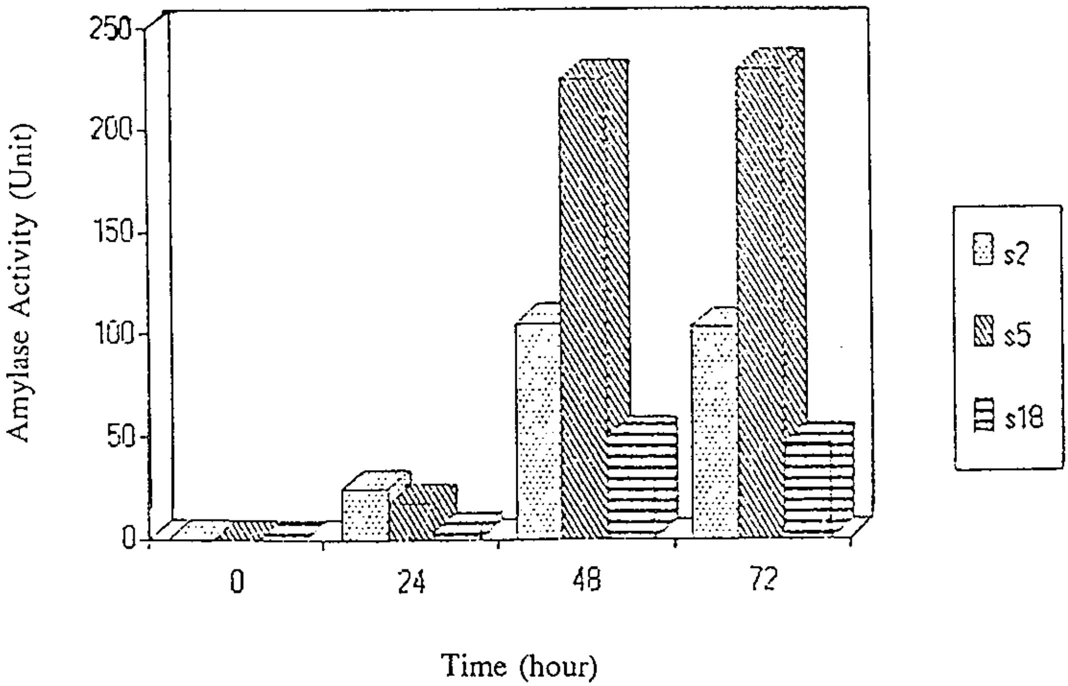
รหัสเชื้อ	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี (มิลลิเมตร)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใส (มิลลิเมตร)	ผลต่าง (มิลลิเมตร)
S23	13.40	NC	0
S24	12.35	NC	0
S25	26.60	NC	0
S26	2.45	5.25	2.80
W1	NG	-	-
W2	8.90	10.00	1.10
W3	10.00	NC	0
W4	13.40	NC	0
W5	14.75	NC	0
W6	7.25	NC	0
W7	3.30	NC	0
W8	15.75	29.50	13.75
W9	5.25	5.50	0.25
W10	5.25	NC	0

NC หมายถึง ไม่เกิดวงใส (no clear zone)

NC หมายถึง เชื้อไม่เจริญ (no growth)

4.2.2 การคัดเลือกแบคทีเรียที่สร้างเอนไซม์ย่อยแป้ง ในอาหารเหลว

เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ไปเลี้ยงในอาหาร TGE สูตรดัดแปลง แล้วทำการหากิจกรรม ของเอนไซม์ย่อยแป้งพบว่าที่ 0 ชั่วโมง ยังไม่มีกิจกรรม ที่ 24 ชั่วโมง เชื้อแบคทีเรียรหัส S2 มีกิจกรรมมากกว่าเชื้อ S5 และ S18 แต่ที่เวลา 48 ชั่วโมงเชื้อ S5 มีกิจกรรมสูงที่สุดและมากกว่า S2 และ S18 ตามลำดับ และที่เวลา 72 ชั่วโมง กิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ค่อนข้างคงที่ (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งของเชื้อแบคทีเรียรหัส S2, S5 และ S18 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว TGE สูตรดัดแปลง pH 7 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

5. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายสารอินทรีย์ของเชื้อที่คัดเลือกได้

5.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ย่อยโปรตีนของเชื้อที่คัดเลือกได้

5.1.1 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ในอาหารเหลว skim milk ที่แปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ที่ระดับต่าง ๆ คือ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซนต์ บ่มบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าการเจริญของแบคทีเรีย รหัส S1 (รูปที่ 3) และกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะมีค่าสูงสุด เมื่อไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ และจะมีค่าลดลงเมื่อปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4) และจากการทดลองของสมพร(2535) ที่ศึกษาผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำพบว่ามีเชื้อบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์

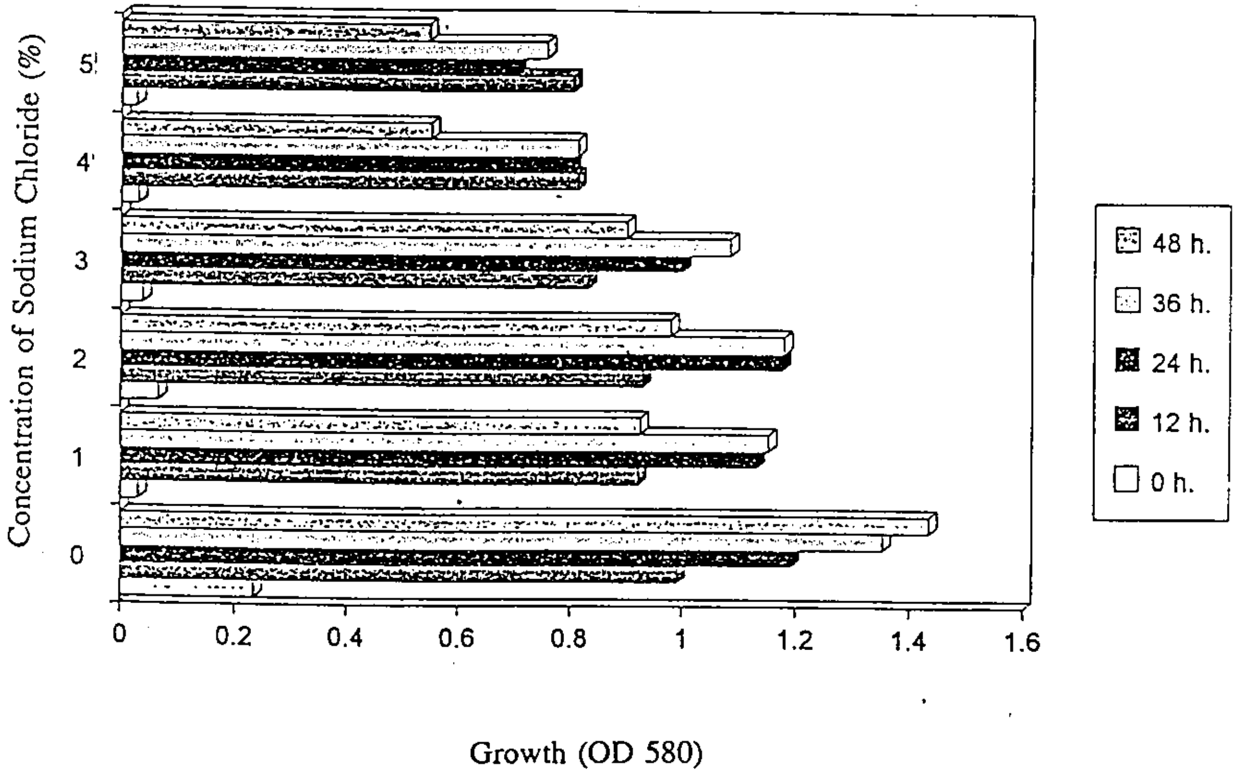
5.2.2 พี เอช

จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1ในอาหารเหลว skim milk ที่ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ และมีการปรับ pH ที่ระดับต่าง ๆ คือ pH 4, 5, 6, 7, 8 และ 9 บ่มบนเครื่องเขย่า ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 เจริญได้ดีที่ pH 6-7 และเจริญได้น้อยลงเมื่อ pH มีค่ามากกว่า 7 (รูปที่ 5) ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะมีค่าสูงสุดที่ pH 5-6 และจะมีค่าลดลงเมื่อ pH มีค่ามากกว่า 6 (รูปที่ 6) ดังนั้น pH ที่เหมาะสมที่สุด คือ pH 6 ซึ่งเป็น pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ และการสร้างเอนไซม์โปรติเอส (รูปที่ 5 และรูปที่ 6)

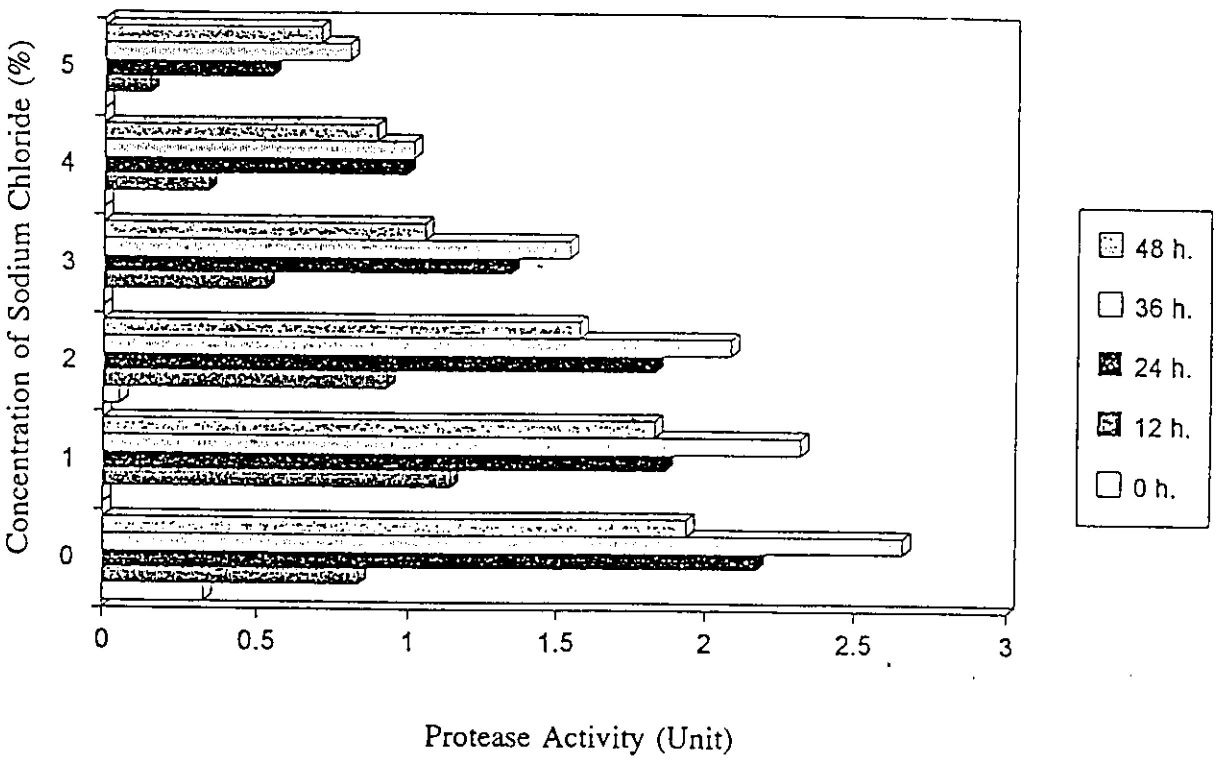
5.2.3. อุณหภูมิ

จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ในอาหารเหลว skim milk ที่ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ และมี pH เท่ากับ 6 บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่แปรผันอุณหภูมิเป็น 25, 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 สามารถเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส ส่วนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 30 องศาเซลเซียส และมากกว่า 35 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 จะเจริญได้น้อย (รูปที่ 7) กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสจะมีค่าสูงสุดที่

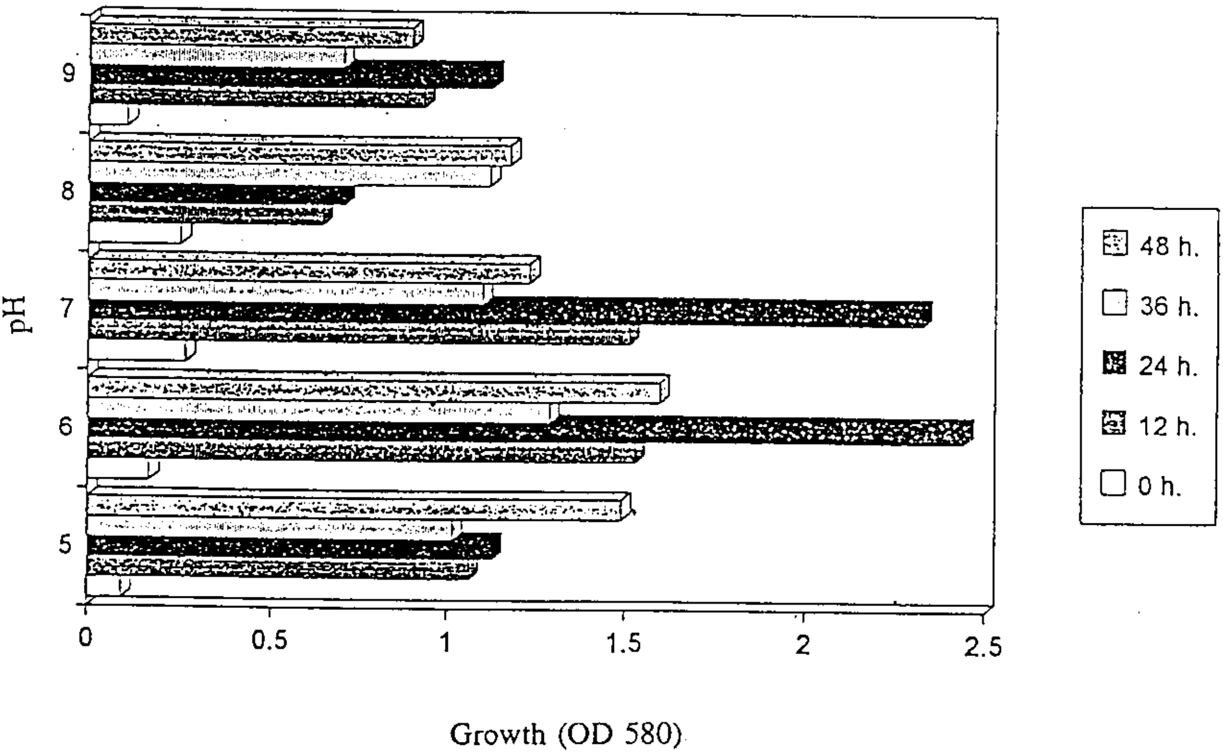
อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิมีค่าต่ำกว่าหรือสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (รูปที่ 8) ดังนั้น เชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 เจริญและสร้างเอนไซม์โปรติเอสได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส



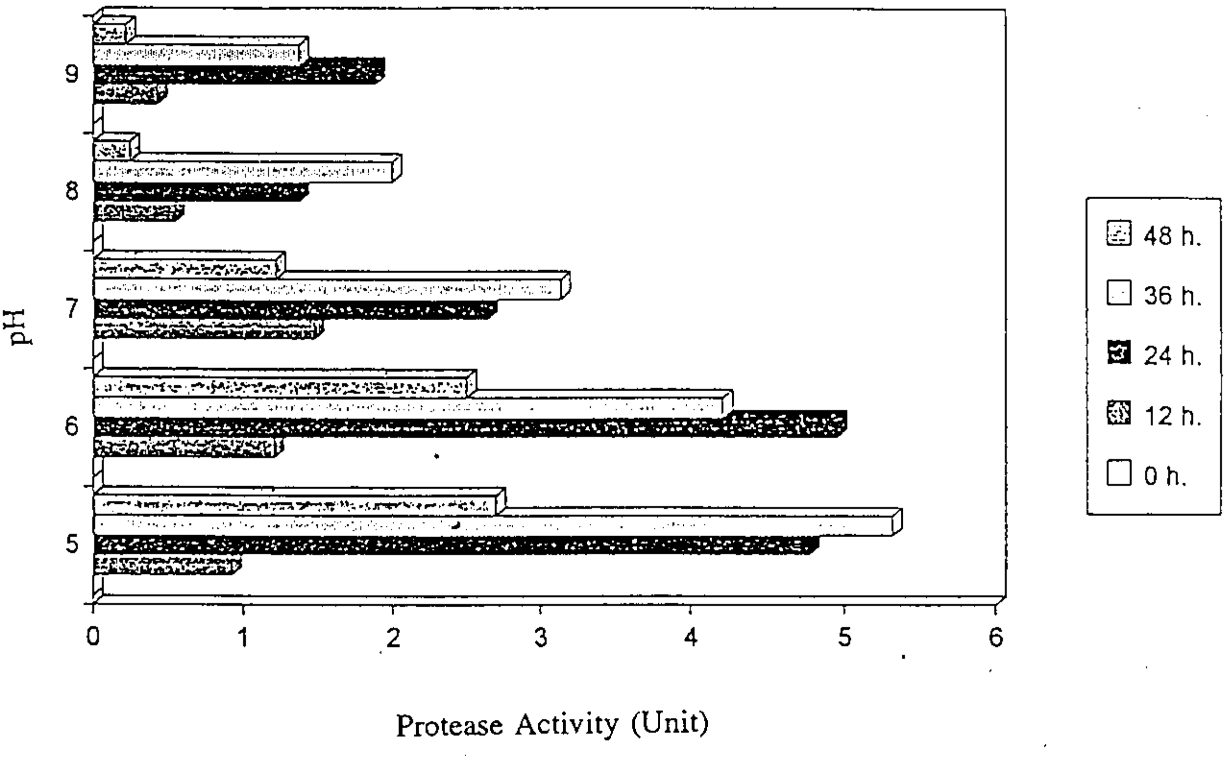
รูปที่ 3 การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เลี้ยงในอาหาร skim milk ที่แปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซนต์ ที่ pH 7 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



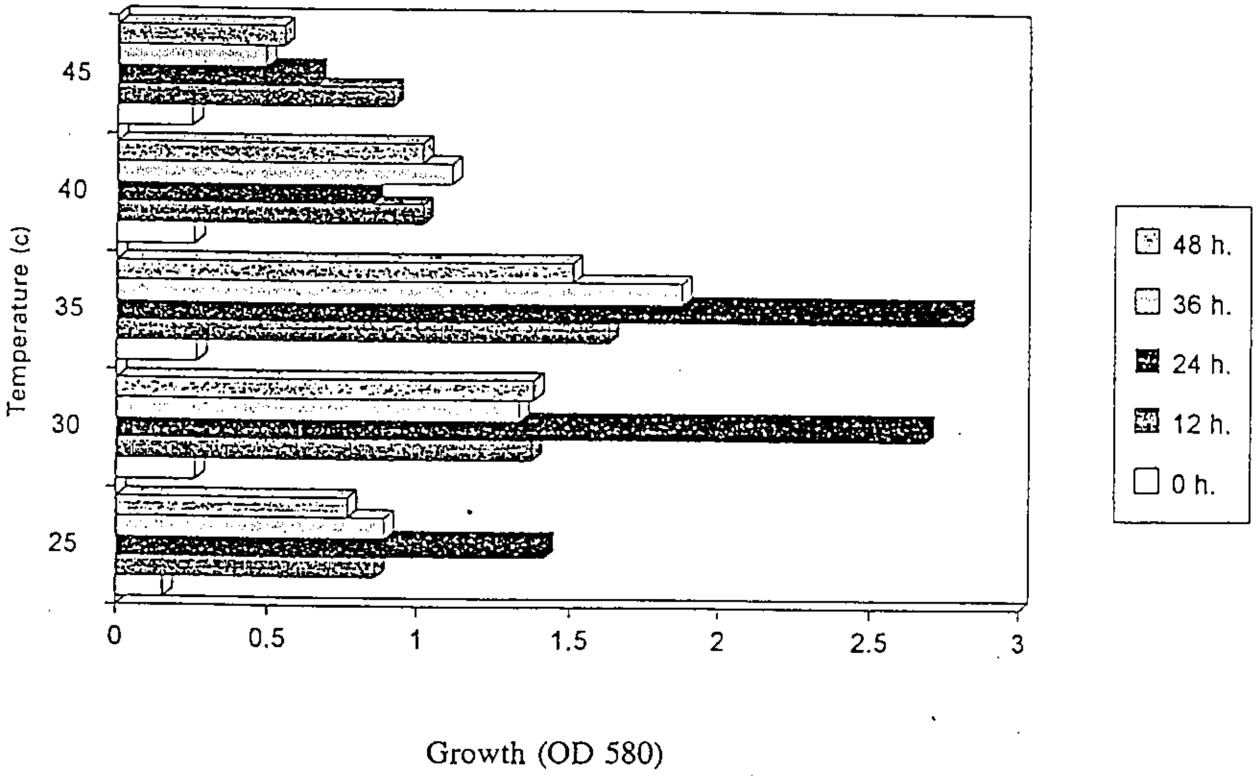
รูปที่ 4 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส ของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เลี้ยงในอาหาร skim milk ที่มีการแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 % ที่ pH 7 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



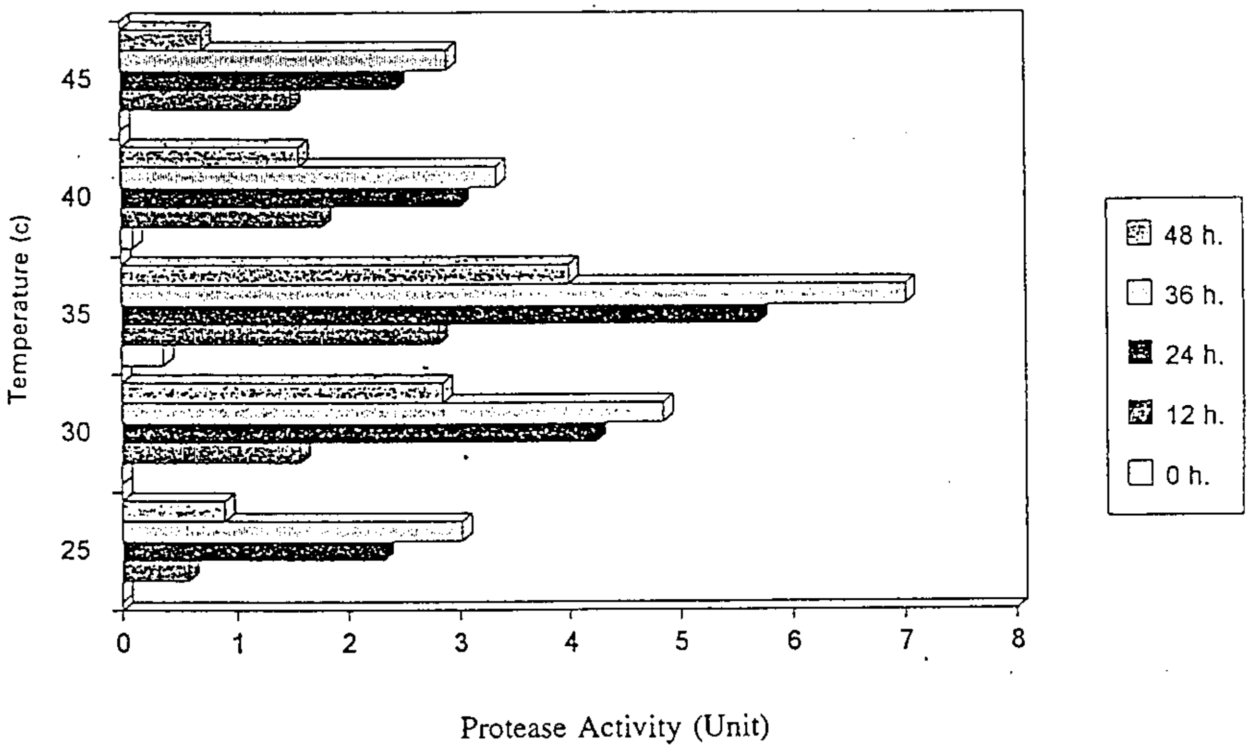
รูปที่ 5 การเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เลี้ยงในอาหาร skim milk ที่มีการแปรผันค่า pH ดังนี้ คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 6 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส ของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เลี้ยงในอาหาร skim milk ที่มีการแปรผันค่า pH ดังนี้คือ 5, 6, 7, 8 และ 9 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง



รูปที่ 7 ผลของการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เวลาต่าง ๆ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ skim milk ที่มีปริมาณ skim milk 0.8 เปอร์เซนต์ pH 8 บ่มที่อุณหภูมิ 25, 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง .



รูปที่ 8 กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสของเชื้อแบคทีเรีย รหัส S1 ที่เลี้ยงในอาหาร nutrient broth ที่มีการเติม skim milk 0.8 เปอร์เซนต์ pH 8 โดยแปรผันอุณหภูมิ ดังนี้คือ 25, 30, 35, 40 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งของเชื้อที่คัดเลือกได้

5.2.1 พีเอช

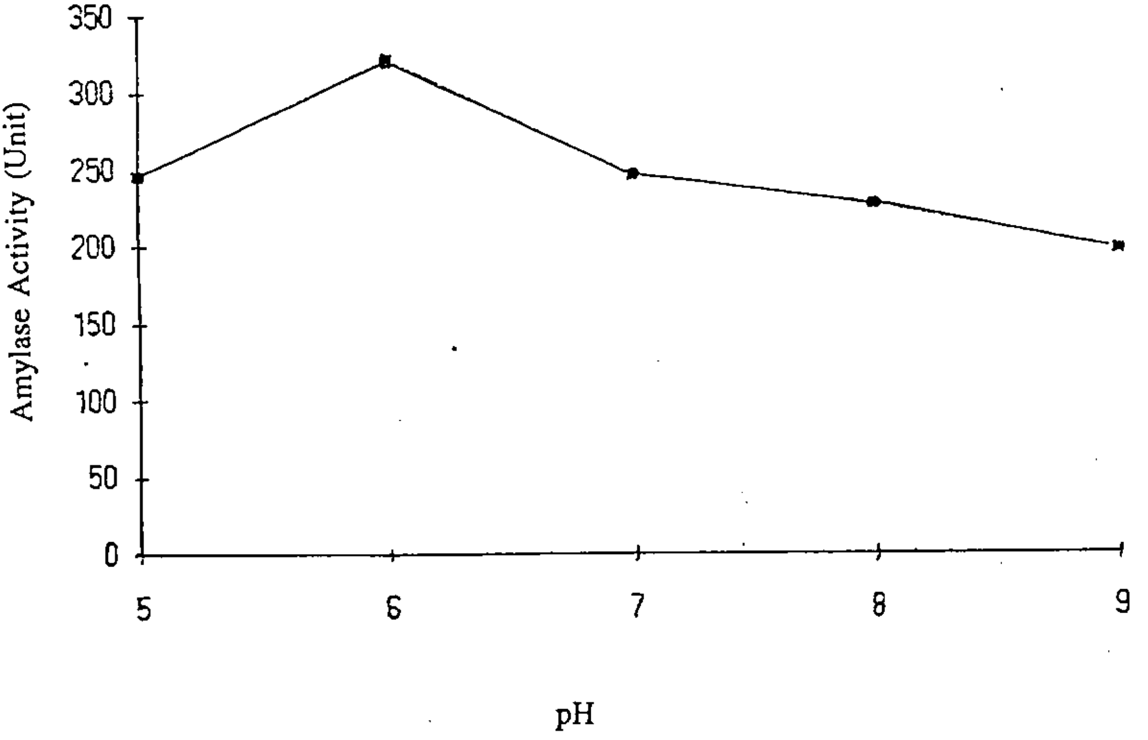
ผลการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งของแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง ที่มีการปรับพีเอชเป็น 5, 6, 7, 8 และ 9 บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปรากฏผลดังแสดงในรูปที่ 3 คือ แบคทีเรีย รหัส S5 จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6 ที่พีเอช 5 และ 7 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพีเอชมากกว่า 7 กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งจะลดลง ดังแสดงในรูปที่ 9

5.2.2 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์

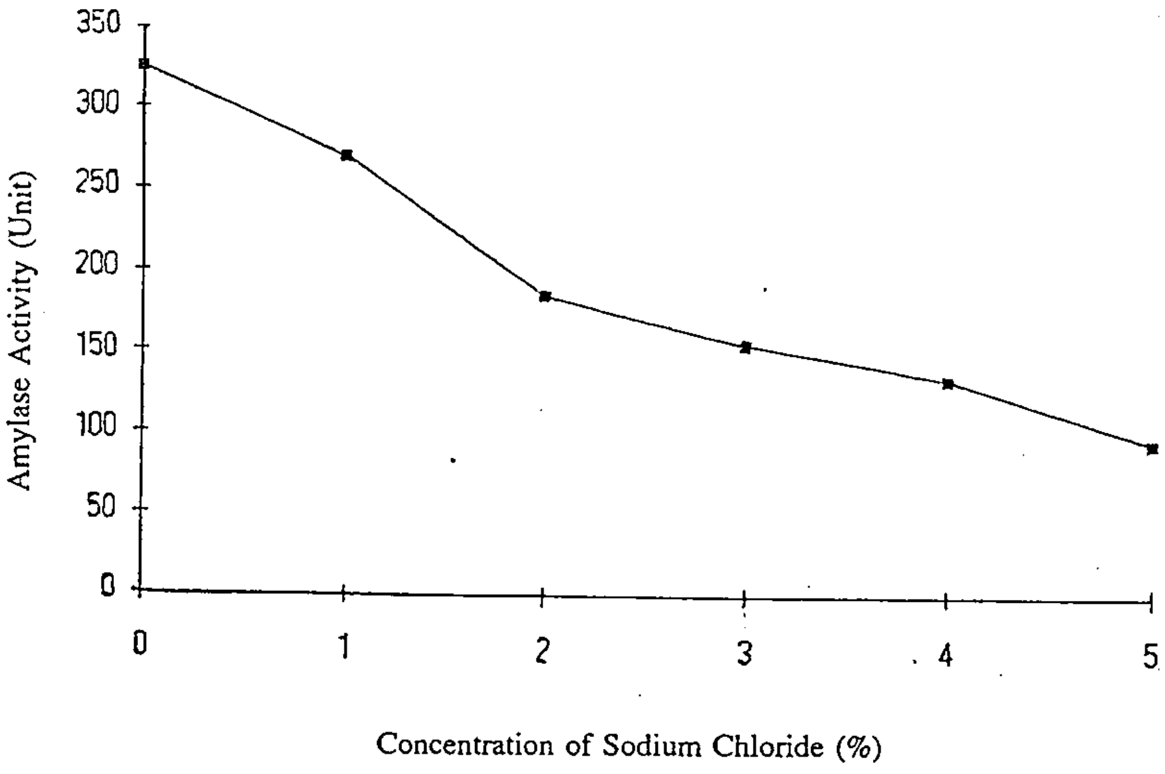
จากการเลี้ยงแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง พีเอช 6 แปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ เป็น 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 เปอร์เซนต์ บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้ง จะมีค่าสูงที่สุดเมื่อไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ และจะมีค่าลดลงเมื่อปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 10 ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับที่ สมพร (2535) ได้ศึกษาผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ ต่อการเจริญของเชื้อที่แยกได้จากบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งพบว่ามีเชื้อบางสายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์

5.2.3 อุณหภูมิ

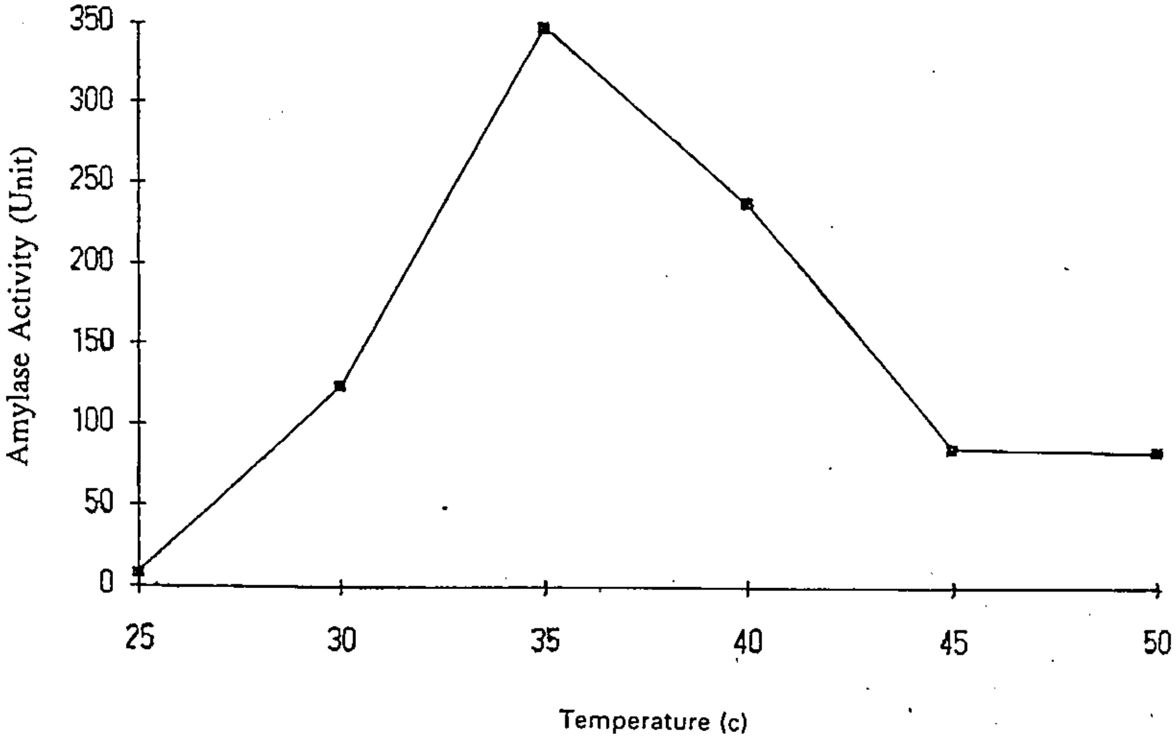
จากการเลี้ยงแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง พีเอช 6 ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที แปรผันอุณหภูมิเป็น 25, 30, 35, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส แล้วหากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้ง พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งจะสูงที่สุดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้ ดังแสดงในรูปที่ 11



รูปที่ 9 ผลของ pH ต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งของแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

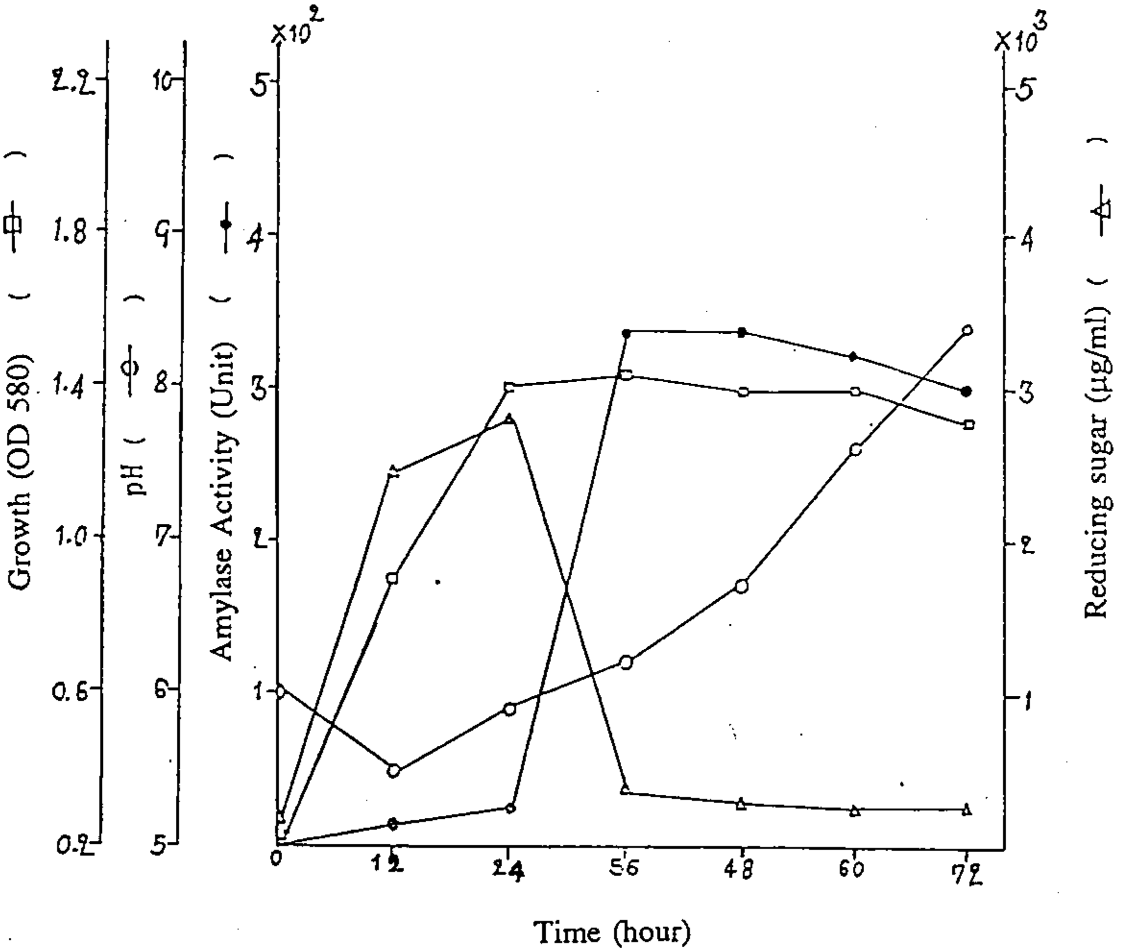


รูปที่ 10 ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งของแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง pH 6 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



รูปที่ 11 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งของแบคทีเรีย รหัส S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง pH 6 ปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0 เปอร์เซนต์ที่อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส

และเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย S5 ในอาหารเหลว tryptone glucose extract สูตรดัดแปลง ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ pH 6 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการสร้างเอนไซม์จะสูงในช่วง 24 ถึง 36 ชั่วโมง และจะค่อนข้างคงที่หลังจากนั้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นสูงสุดที่เวลา 24 ชั่วโมง และลดลงอย่างรวดเร็วที่เวลา 24 ถึง 36 ชั่วโมง พีเอชจะลดลงใน 12 ชั่วโมงแรก และจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ หลังจากนั้น ส่วนการเจริญจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ตั้งแต่ชั่วโมงแรกจนสูงสุดที่ 24 ชั่วโมงหลังจากนั้นจะเริ่มคงที่ ดังแสดงในรูปที่ 12



รูปที่ 12 การเจริญ กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้ง พีเอช และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแบคทีเรียรหัส S5 ที่เจริญในอาหาร tryptone glucose extract สูตรดัดแปลงที่ไม่มีการเติมโซเดียมคลอไรด์ พีเอช 6 อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง