

ศึกษาการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ไซแลนเนส เซลลูเลส และอะไมเลส ในจุลินทรีย์ โปรไบโอติกของ บริษัทเคเอ็มพีไบโอเทค จำกัด คือ 4 สายพันธุ์ แบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ และยีสต์ 2 สายพันธุ์ เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ต่อไป และเปรียบเทียบผลผลิตของจุลินทรีย์แต่ละชนิดในการเลี้ยงแบบขวดเขย่า และสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้งและจำนวนเซลล์มีชีวิตที่ขึ้นบนอาหารแข็ง เพื่อใช้ทำนายค่าผลผลิตการเจริญเติบโตของ โปรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเหลว KMP ซึ่งมีองค์ประกอบสารแขวนลอยปนอยู่ทำให้ไม่สามารถวัดน้ำหนักแห้งได้โดยตรง

ผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสบนอาหารแข็ง พบเอนไซม์โปรติเอส ไซแลนเนส เซลลูเลส และอะไมเลส ในแบคทีเรียทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ *Bacillus subtilis* CU340 *B. subtilis* KMP CU 9 *B. licheniformis* TISTR 004 และ *B. licheniformis* TISTR 005 โดย พบเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสของโปรติเอส ไซแลนเนส เซลลูเลสและอะไมเลสใน *B. subtilis* CU340 เท่ากับ 23.35 23.80 20.65 และ 17.25 มิลลิเมตร ตามลำดับ ใน *B. subtilis* KMP CU 9 เท่ากับ 24.75 19.63 18.70 และ 11.40 มิลลิเมตร ตามลำดับ ใน *B. licheniformis* TISTR 004 เท่ากับ 26.35 19.63 18.70 และ 11.40 มิลลิเมตร ตามลำดับ และใน *B. licheniformis* TISTR 005 เท่ากับ 23.65 11.65 13.10 และ 24.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์โดยการวัดเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใส ในแบคทีเรียแลคติก 2 สายพันธุ์ คือ *Lactococcus plantarum* CU 20 และ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 954 ตรวจพบเฉพาะโปรติเอส ไม่พบอะไมเลส ไซแลนเนส และเซลลูเลส โดยพบเส้นผ่าศูนย์กลางโซนใสของโปรติเอสใน *L. plantarum* CU 20 และ *P. pentosaceus* TISTR 954 คือ 11.15 และ 6.35 มิลลิเมตร ตามลำดับ ตรวจไม่พบการสร้างเอนไซม์โปรติเอส ไซแลนเนส เซลลูเลสและอะไมเลส ในยีสต์ 2 สายพันธุ์ที่ศึกษา คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5020 และ *S. cerevisiae* TISTR 5094

ผลการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้ง และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตบนอาหารแข็ง เพื่อใช้ในการทำนายค่าน้ำหนักแห้งของจุลินทรีย์ ที่เลี้ยงบนอาหารเหลวเคเอ็มพีซึ่งไม่สามารถวัดน้ำหนักแห้งได้โดยตรง พบว่าได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้ง และจำนวนเซลล์เป็นเส้นตรงคือ $y = 3 \times 10^{-9}x$ $y = 2 \times 10^{-9}x$ $y = 9 \times 10^{-9}x$ $y = 8 \times 10^{-9}x$ $y = 2 \times 10^{-9}x$ $y = 1 \times 10^{-9}x$ $y = 2 \times 10^{-7}x$ และ $y = 4 \times 10^{-7}x$ ใน *B. subtilis* CU 340 *B. subtilis* KMP CU 9 *B. licheniformis* TISTR 004 *B. licheniformis* TISTR 005 *L. plantarum* CU 20 *P. pentosaceus* TISTR 954 *S. cerevisiae* TISTR 5020 และ *S. cerevisiae* TISTR 5094 ตามลำดับ (เมื่อ x คือจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้บนอาหารแข็ง มีหน่วยเป็น cfu/ml และ y คือน้ำหนักแห้งของเซลล์ มีหน่วยเป็น g/L) แต่ไม่สามารถใช้เป็นกราฟมาตรฐานในการแปลงหรือทำนายผลจากจำนวนเซลล์ให้เป็นน้ำหนักแห้งได้โดยตรง โดยเฉพาะในกรณีแบซิลลัส เนื่องจากผลที่ได้เบี่ยงเบนจากค่าความเป็นจริงหรือค่าทางทฤษฎีมาก และเมื่อเพิ่มจำนวนตัวอย่างในการสร้างกราฟมาตรฐานจากเดิม 4 ตัวอย่างเป็น 10 ตัวอย่าง พบว่า การทำนายผลผลิตใน *S. cerevisiae* ให้ค่าที่ดีขึ้น แต่ในแบซิลลัสยังไม่แตกต่างจากเดิมมากนัก โดยได้สมการความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักเซลล์แห้ง และจำนวนเซลล์คือ $y = 2 \times 10^{-9}x$ ใน *B. subtilis* KMP-CU 9 และ $y = 5 \times 10^{-8}x$ ใน *S. cerevisiae* TISTR 5094 (เมื่อ x คือจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้บนอาหารแข็ง หน่วยเป็น cfu/ml และ y คือน้ำหนักแห้งของเซลล์ หน่วยเป็น g/L) สันนิษฐานว่า การสร้างกราฟมาตรฐานโดยวิธีนี้ จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างที่มีจำนวนมากพอ เพื่อให้เกิดความแม่นยำสูงขึ้นในการทำนายค่า โดยเฉพาะในแบคทีเรียเช่นแบซิลลัส ซึ่งมีขนาดเล็กกว่ายีสต์ต้องใช้จำนวนตัวอย่างที่มากกว่ายีสต์ จึงจะให้ผลทำนายที่ใกล้เคียง

The production of enzyme protease, xylanase, cellulose and amylase were studied in probiotics from KMP BIOTECH Co., LTD. , 4 strains of *Bacillus* spp., 2 strains of Lactic Acid Bacteria (LAB) and 2 strains of *Saccharomyces cerevisiae*. The standard curve between cell dry weight and viable cells was purposed for yield prediction of cell grown in KMP medium. Since KMP medium contains suspended solids such as wheat flour and fish meal in the medium, and then it is difficult to measure cell dry weight directly.

The enzyme production was tested by radial diffusion enzyme method by measurement of the clear zone in agar plate. It was found protease xylanase cellulase and amylase in all 4 tested strains of *Bacillus*. Results of clear zone's diameter of protease xylanase cellulase and amylase in *Bacillus subtilis* CU340 are 23.35, 23.80, 20.65 and 17.25 mm., respectively; in *B. subtilis* KMP CU 9 are 24.75, 19.63, 18.70 and 11.40 mm., respectively; in *B. licheniformis* TISTR 004 are 26.35, 19.63, 18.70, 11.40 mm., respectively; in *B. licheniformis* TISTR 005 are 23.65, 11.65, 13.10 and 24.10 mm., respectively.

In Lactic Acid Bacteria, it was found only protease activity from *Lactococcus plantarum* CU 20 and *Pediococcus pentosaceus* TISTR 954. No amylase, xylanase and cellulose was detected in the strains. The clear zone's diameter of protease activities in *L. plantarum* CU 20 and *P. pentosaceus* TISTR 954 are 11.15 and 6.35 mm., respectively. Furthermore, none of protease amylase, xylanase and cellulose were found in *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5020 and *S. cerevisiae* TISTR 5094.

The standard curve between cell dry weight and cell number grown in KMP medium was presented for dry weight prediction. The linear relation was observed in the models of $y = 3 \times 10^{-9x}$, $y = 2 \times 10^{-9x}$, $y = 9 \times 10^{-9x}$, $y = 8 \times 10^{-9x}$, $y = 2 \times 10^{-9x}$, $y = 1 \times 10^{-9x}$, $y = 2 \times 10^{-7x}$ and $y = 4 \times 10^{-7x}$ in *B. subtilis* CU 340, *B. subtilis* KMP CU 9, *B. licheniformis* TISTR 004, *B. licheniformis* TISTR 005, *L. plantarum* CU 20, *P. pentosaceus* TISTR 954, *S. cerevisiae* TISTR 5020 and *S. cerevisiae* TISTR 509, respectively, where x is cell number (cfu/ml) and y is cell dry weight (g/L). But the model can't effectively predict cell dry weight, especially in *Bacillus* group. The predicted yield is deviated from theoretical yield. Number of preparation samples in the standard curved was then increased from 4 to 10. The yield prediction in *S. cerevisiae* is much better improvement than in *Bacillus*. The new yield prediction models in *B. subtilis* KMP-CU 9 and *S. cerevisiae* TISTR 5094 were $y = 2 \times 10^{-9x}$ and $y = 5 \times 10^{-8x}$, respectively, where x is cell number (cfu/ml) and y is cell dry weight (g/L). It is thought that the method required many samples for representative data in the standard curve used for prediction in the model, particularly in *Bacillus* which having a smaller size than yeast.