จากการคัดเลือกเชื้อรา *Aspergillus oryzae* จำนวน 10 สายพันธุ์ ซึ่งแยกได้จาก โคจิซีอิ๊วของโรงงานซีอิ๊วในจังหวัดสงขลาจำนวน 2 สายพันธุ์ เชื้อจากภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จำนวน 3 สายพันธุ์ และเชื้อจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสที่ทนเกลือสูงได้ดี บนอาหารดัดแปลง sodium caseinate agar สำหรับเอนไซม์โปรติเอส และอาหารดัดแปลง Czapex's agar โดยใช้ soluble starch แทน saccharose สำหรับเอนไซม์แอมิเลส ที่ดัดแปลงโดยการเติมเกลือแกง (NaCl) ที่ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อรา *A. oryzae* TISTR 3083 และ *A. oryzae* MI PSU1 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส และแอมิเลสได้สูงสุด ตามลำดับ ที่ความเข้มข้นเกลือ 15 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำเชื้อราที่คัดเลือกได้มาผลิตเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสแบบโคจิ โดยใช้อาหารที่แตกต่างกัน 5 ชนิด คือ ถั่วเหลือง กากถั่วเหลือง ข้าวสาลี ข้าวเจ้า และรำข้าวเจ้า ที่ปรับความชื้นเริ่มต้นเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เชื้อรา *A. oryzae* สายพันธุ์ TISTR 3083 สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอส ได้สูงกว่า สายพันธุ์ MI PSU1 บนอาหารรำข้าวเจ้า แต่เชื้อราสายพันธุ์ MI PSU1 สามารถสร้างเอนไซม์แอมิเลสได้สูงกว่าสายพันธุ์ TISTR 3083 บนอาหารรำข้าวเจ้าเช่นเดียวกัน

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา *A. oryzae* สายพันธุ์ TISTR 3083 คือ ใช้รำข้าวเจ้าเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ปรับความชื้นเริ่มต้นเป็น 45 เปอร์เซ็นต์ พีเอชเริ่มต้น 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน สามารถสร้างเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสได้สูงสุด 4,375.60 และ 141.56 U/g dry koji ตามลำดับ และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลส ที่พีเอช 8.0 อุณหภูมิ 40 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และพบว่า เกลือแกง มีผลยับยั้งทั้งกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสของเชื้อรา อย่างไรก็ตาม เมื่อเพิ่มปริมาณเกลือ 30 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสยังคงเหลืออยู่ 8.95 และ 19.98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยเอนไซม์โปรติเอสและแอมิเลสมีความคงทนต่อพีเอชได้ดีที่พีเอช 6.0-7.0 และ 7.0-9.0 ตามลำดับ และมีความคงทนของอุณหภูมิอยู่ในช่วง 30 และ 30 - 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในสภาพที่มีเกลือแกง 25 เปอร์เซ็นต์

การผลิตโคจิเพื่อใช้ในการหมักน้ำปลา โดยเลี้ยงเชื้อ *A. oryzae* TISTR 3083 บนรำข้าวเจ้าที่มีความชื้นเริ่มต้น 45 เปอร์เซ็นต์ และมีพีเอชเริ่มต้น 7.0 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 600 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้โคจิที่มีกิจกรรมโปรติเอสเท่ากับ 4,208 U/g dry koji ในเวลา 4 วัน

การหมักน้ำปลาจากปลากะตัก (*Stolephorus* sp.) โดยใช้โคจิปริมาณต่างๆ คือ 0-20 เปอร์เซ็นต์ เกลือป่น 25 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้อง พบว่า ในการทดลองที่หมักโดยเติมโคจิ 5

เปอร์เซ็นต์ จะได้น้ำปลาที่มีคุณภาพดีในเวลาหมักเพียง 4 เดือน โดยน้ำปลาที่หมักได้มีปริมาณกรดอะมิโนอิสระสูงถึง 8,530.70 มิลลิกรัม/100มิลลิลิตร พีเอช 5.4 มีสีน้ำตาลอมแดง ความเข้มสีจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เท่ากับ 2.39 มีปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 27.03 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณ total nitrogen 20.97 กรัมต่อลิตร และจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของกลุ่มตัวอย่างผู้บริโภค พบว่าน้ำปลาที่หมักโดยการเติมโคจิ 5 เปอร์เซ็นต์ ได้รับการยอมรับทั้งทางด้าน กลิ่น สี รสชาติ และความชอบโดยรวมมากกว่าน้ำปลาที่ไม่เติมโคจิอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์รองลงมาคือ น้ำปลาที่เติมโคจิ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น การใส่โคจิร่วมในการหมักน้ำปลามีผลเร่งกระบวนการย่อยสลายโปรตีน กระบวนการเกิดสี และกระบวนการเกิดกลิ่นและรสชาติของน้ำปลาได้

Ten strains of *Aspergillus oryzae* comprising two strains isolated from soy sauce factories in Songkhla province, three strains from culture collection of Department of Microbiology, Prince of Songkla University, HatYai Campus and five strains from Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR). All strains of *A. oryzae* were screened for salt-tolerant protease and amylase on modified sodium caseinate agar medium and modified Czapex's agar with soluble starch in stead of saccharose added with NaCl concentrations: 0, 5, 10, 15 and 20%. *A. oryzae* TISTR 3083 and *A. oryzae* MI PSU 1 exhibited the highest activity of protease and amylase at 15% NaCl, respectively.

In addition, the protease and amylase productions of these two strains in koji-type process with various substrates: soy bean, defatted soy bean, wheat, rice and rice bran were investigated. *A. oryzae* TISTR 3083 exhibited protease activity higher than *A. oryzae* MI PSU 1 on the rice bran koji when the initial moisture content was adjusted to 45%. On the other hand, *A. oryzae* MI PSU 1 could produce amylase activity higher than *A. oryzae* TISTR 3083 on the rice bran koji.

The optimal condition for the highest enzymes production from *A. oryzae* TISTR 3083 were investigated in rice bran with initial moisture content of 45%, initial pH 7.0 at 30 $^{\circ}$C for 4 days. In addition, the highest protease and amylase activity of 4,375.60 and 141.56 U/g dry koji were obtained. The optimal pH for protease and amylase activity were 8.0 and temperatures were 40 and 45 $^{\circ}$C, respectively. Sodium chloride showed inhibition effect on protease and amylase activity. However, the protease and amylase activity were 8.95 and 19.98%, respectively when NaCl concentration was increased up to 30%. The pH stability of protease and amylase were 6-7 and 7-9, temperature were 30 and 30-55 $^{\circ}$C, respectively together with 25% NaCl at room temperature.

The activity of proteases in koji production for fish sauce fermentation using *A. oryzae* TISTR 3083 grown on the rice bran medium with initial moisture content of 45%, initial pH 7.0 at 30 $^{\circ}$C in 600 ml Erlenmeyer flask for 4 days was 4,208 U/g dry koji.

Fish sauce fermentation was carried out using Pla Katak (*Stolephorus* sp.) with koji at different concentrations (0-20%) of fine powdered salt and incubated at room temperature. The results indicated that fish sauce fermentation with 5% of koji produced the best quality of fish sauce within 4 months of fermentation. It had a characteristic of

clear and reddish-brown liquid, an absorbance of 2.39 at 420 nm, pH of 5.4 and sodium chloride content of 27.03%. The amount of free amino acid content was 8,530.7 mg/100ml and amount of total nitrogen was 20.97 g/l. In addition, sensory test was evaluated by using hedonic scale. The results showed that fish sauce prepared with 5% koji had scores significantly different in color, aroma, flavor and overall acceptance compared to sample without koji at 95 % confidence interval ($p<0.05$) followed by fish sauce with 10% koji. Therefore, fish sauce prepared with koji could be accelerate protein hydrolyzing process, color development process, as well as flavor and aroma creating process.