

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียม

1. อาหารข้าวกล้อง (Brown rice medium)

อาหารข้าวกล้อง 5% 10% 15% 20% และ 30%

ข้าวกล้อง 2.5 กรัม 5.0 กรัม 7.5 กรัม 10.0 กรัม และ 15.0 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที จะได้อาหารข้าวกล้อง 5% 10% 15% 20% และ 30% ตามลำดับ

2. อาหารวุ้นแป้ง (Starch agar)

Soluble starch	5.0	g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1.0	g
KH ₂ PO ₄	2.0	g
Na ₂ HPO ₄	3.0	g
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.1	g
Yeast extract	0.2	g
Trace element	1.0	ml
Agar	15	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 7.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

Trace element

$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	5.0	g
$\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.6	g
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	1.4	g
CoCl_2 anhydrous	2.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 7.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
อัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

3. Nutrient agar (NA)

Beef extract	3.0	g
Peptone	5.0	g
Agar	20	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 7.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
อัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

4. Potato Dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง	200	g
Dextrose	20	g
Agar	20	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 7.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
อัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

5. Yeast Malt extract agar (YM agar)

Glucose	10.0	g
Peptone	5.0	g
Yeast extract	3.0	g
Malt extract	3.0	g
Agar	20.0	g
Distilled water	1,000	ml

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ปรับ pH ให้เป็น 6.0 นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง
 อัดไอที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข
การเตรียมสารเคมีบัฟเฟอร์ และ Reagent

1. Phosphate buffer (Sidney and Nathan, 1955)

Stock solution

A : 0.2 M ของสารละลาย monobasic sodium phosphate (NaH_2PO_4) 27.8 กรัม
ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

B : 0.2 M ของสารละลาย dibasic sodium phosphate ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) 53.65 กรัม
หรือ ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$) 71.1 กรัมในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

Working Stock

X ml of A + Y ml of B เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรรวม 200 มิลลิลิตร

pH	X	Y	pH	X	Y
5.7	93.5	6.5	6.9	45.0	55.0
5.8	92.0	8.0	7.0	39.0	61.0
5.9	90.0	10.0	7.1	33.0	67.0
6.0	87.7	12.3	7.2	28.0	72.0
6.1	85.0	15.0	7.3	23.0	77.0
6.2	81.5	18.5	7.4	19.0	81.0
6.3	77.5	22.5	7.5	16.0	84.0
6.4	73.5	26.5	7.6	13.0	87.0
6.5	68.5	31.5	7.7	10.5	90.5
6.6	62.5	37.5	7.8	8.5	91.5
6.7	56.5	43.5	7.9	7.0	93.0
6.8	51.0	49.0	8.0	5.3	94.7

2. DNS reagent

ละลาย NaOH 5 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติม 3,5-dinitrosalicylic acid 5 กรัม Na_2SO_3 0.25 กรัม และ phenol 1.0 กรัม แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 500 มิลลิลิตร

3. Reagent C

สารละลาย A : NaCO_3 1 กรัม ในสารละลาย 0.4% NaOH 50 มิลลิลิตร (NaOH 0.2 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร)

สารละลาย B_1 : 1% $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.02 กรัม ในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร)

สารละลาย B_2 : 2% $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.04 กรัม ในน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร)

$$\begin{aligned}\text{Reagent C} &= \text{สารละลาย A} : \text{สารละลาย } B_1 : \text{สารละลาย } B_2 \\ &= 50 : 0.5 : 0.5\end{aligned}$$

เก็บสารละลาย A, B_1 , B_2 ในตู้เย็น ก่อนใช้จึงมาผสมเป็น reagent C

4. Folin phenol reagent

สารละลายสีเหลือง ความเข้มข้น 2 N ก่อนใช้ นำมาเจือจางในน้ำกลั่น 1 เท่า เพื่อให้ได้ความเข้มข้น 1 N

ภาคผนวก ค

การเตรียม BaSO_4 standard หรือ McFarland เบอร์ต่าง ๆ

ตาราง 5 ส่วนผสมของ 0.048 M BaCl_2 (1.175% w/v $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

และ 0.36 M H_2SO_4 (1% v/v) (อ้างโดยอัญญา, 2541)

Tube	NO										
	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Barium chloride (ml)	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9	1.0
Sulfuric acid (ml)	9.95	9.9	9.8	9.7	9.6	9.5	9.4	9.3	9.2	9.1	9.0
Approx. cell density ($\times 10^8$ /ml)	1.5	3	6	9	12	15	18	21	24	27	30

ผสม 0.048 M BaCl_2 และ 0.36 M H_2SO_4 ตามอัตราส่วนที่กำหนด เก็บไว้ในหลอด
ฝาเกลียวขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร เมื่อต้องการใช้ให้เขย่าหลอดจะเกิดความขุ่นเทียบได้กับ
McFarland เบอร์ต่าง ๆ

ภาคผนวก ง
การทำกราฟมาตรฐาน

1. กราฟมาตรฐานสารละลายน้ำตาลมอลโตส

1. เตรียมสารละลายน้ำตาลมอลโตส (stock solution) เข้มข้น 1,000 $\mu\text{g/ml}$ (มอลโตส 0.1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) แล้วเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐานมอลโตสเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 550 $\mu\text{g/ml}$ ดังนี้

ตาราง 6 การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลมอลโตส

ความเข้มข้น ($\mu\text{g/ml}$)	Stock solution (μl)	น้ำกลั่น (μl)
0	0	300
100	30	270
150	45	255
200	60	240
250	75	225
300	90	210
350	105	195
400	120	180
450	135	165
500	150	150
550	165	135

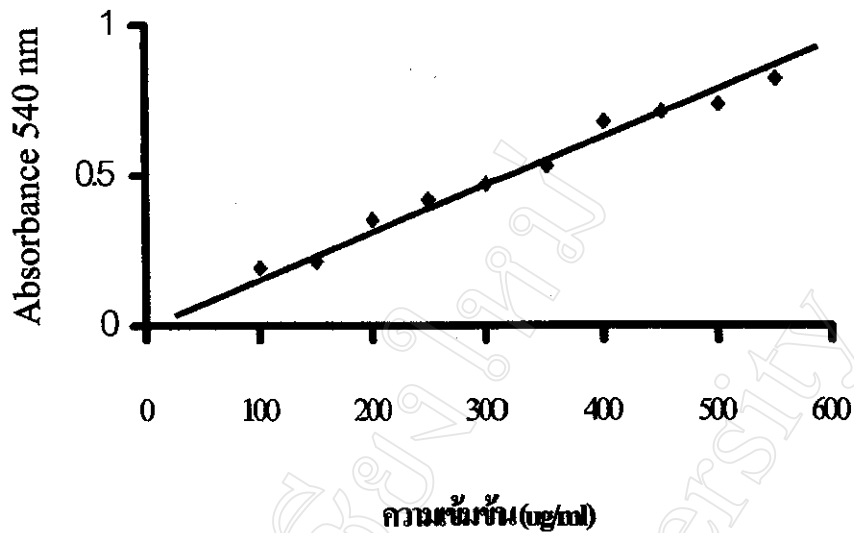
2. นำไปบ่มพร้อมเขย่าใน magnetic shaking water bath ความเร็ว 600 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 30 นาที

3. เติม DNS reagent 3 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด

4. ปิดหลอดด้วยลูกแก้ว นำไปต้มในน้ำเดือด 15 นาที

5. เติม 40% sodium potassium tartate 1 มิลลิลิตร แล้วทำให้เย็น

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer



ภาพ 23 กราฟมาตรฐานสารละลายน้ำตาลมอลโตส

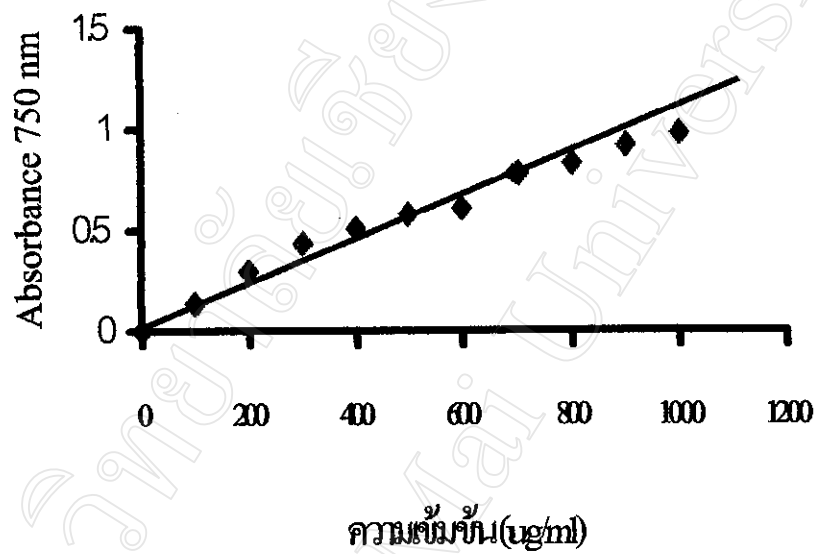
2. กราฟมาตรฐานปริมาณโปรตีน Bovine Serum Albumin

1.เตรียมสารละลายโปรตีน bovine serum albumin หรือ BSA (stock solution) เข้มข้น 1,000 µg/ml (BSA 0.1 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) แล้วเตรียมเป็นสารละลายมาตรฐาน BSA เข้มข้น 0 ถึง 1,000 µg/ml ดังนี้

ตาราง 7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานโปรตีน

ความเข้มข้น (µg/ml)	Stock solution (µl)	น้ำกลั่น (µl)
0	0	300
100	30	270
200	60	240
300	90	210
400	120	180
500	150	150
600	180	120
700	210	90
800	240	60
900	270	30
1,000	300	0

2. เติมสารละลาย reagent C 3 มิลลิลิตร ที่งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที
3. เติมสารละลาย Folin phenol reagent 0.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร



ภาพ 24 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin

ภาคผนวก จ

การคำนวณ

1. การคำนวณ unit ของเอนไซม์

หน่วยการทำงานของเอนไซม์ (unit of enzyme)

กำหนดให้ 1 unit ของเอนไซม์ หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการปลดปล่อย
มอลโตส 1 มิลลิกรัม ที่อุณหภูมิ 40°C ในเวลา 1 นาที

ปริมาณน้ำตาลมอลโตสที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงสุทธิ (A)
ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโตส ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงสุทธิ (A) หาได้จาก

$$A = ES - EC - SC$$

ES คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ enzyme substrate

EC คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ enzyme control

SC คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ substrate control

การคำนวณ enzyme activity

$$\text{สมมติให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการเทียบกราฟมาตรฐาน} = A \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{ปริมาณ crude enzyme ที่ใช้ในปฏิกิริยา} = 1.0 \text{ ml}$$

$$\text{ระยะเวลาที่ใช้บ่มเอนไซม์} = 30 \text{ นาที}$$

$$\text{ดังนั้น ค่าการทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity)} = \frac{A \times 10^{-3} \times \text{dilution factor}}{30 \text{ min} \times 1 \text{ ml crude enzyme}} \text{ U/ml}$$

2. การคำนวณปริมาณโปรตีน

$$\text{สมมติให้ปริมาณโปรตีนที่ได้จากการเทียบกราฟมาตรฐาน} = B \times 10^{-3} \text{ mg/ml}$$

$$\text{ปริมาณ crude enzyme ที่ใช้ในปฏิกิริยา} = 0.3 \text{ ml}$$

$$\text{ดังนั้น ปริมาณโปรตีนที่ได้จากปฏิกิริยา} = \frac{B \times 10^{-3} \times \text{dilution factor}}{0.3 \text{ ml}} \text{ mg/ml}$$

3. การคำนวณ specific activity

specific activity ของเอนไซม์ หมายถึง ค่าอัตราส่วนของเอนไซม์หรือโปรตีนที่ศึกษาต่อโปรตีนทั้งหมด ถ้าตัวอย่างมีค่า specific activity สูง แสดงว่ามีเอนไซม์ที่สนใจอยู่มากเมื่อเทียบกับโปรตีนทั้งหมด นั่นคือ ตัวอย่างที่มีค่า specific activity สูงจะมีความบริสุทธิ์มากกว่าตัวอย่างที่มีค่า specific activity ต่ำ ซึ่งค่า specific activity คำนวณได้จาก

$$\text{specific activity} = \frac{\text{enzyme activity (U/ml)}}{\text{ปริมาณโปรตีน (mg/ml)}}$$

4. การคำนวณเปอร์เซ็นต์การย่อยข้าวกล้อง

สมมุติน้ำหนักของข้าวกล้องที่ใช้ในการทดลอง = D_1 กรัม

น้ำหนักของข้าวกล้องหลังจากอบแห้ง = D_2 กรัม

น้ำหนักข้าวที่ถูกย่อยไป = $D_1 - D_2$ กรัม

$$\text{เปอร์เซ็นต์การย่อยข้าวกล้อง} = \frac{D_1 - D_2 \times 100}{D_1} \%$$

5. การคำนวณปริมาณกรดทั้งหมด

$$\% \text{ Total acidity (g/100 ml)} = \frac{(V) (N) (MW) (100)}{(1,000) (U)}$$

โดยกำหนดให้

V = ปริมาณของสารละลาย NaOH 0.1 N ที่ใช้ในการไทเทรตจนถึง end point (ml)

N = normality ของสารละลายมาตรฐาน NaOH

U = ปริมาณของตัวอย่างที่นำมาไทเทรต (ml)

MW = น้ำหนักโมเลกุลของกรดที่เราต้องการจะหา

ภาคผนวก ฉ
ตารางแสดงผลการทดลอง

ตาราง 8 ตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อ และ ไอโซเลทที่คัดแยกได้

ตัวอย่างที่	ชนิดของตัวอย่าง	ไอโซเลทที่พบ
1	ดินจากภาควิชาธรณีวิทยา มหาวิทยาลัย เชียงใหม่	SB 1, SB 2, SB 3, AM 1 F, AM 2 F, AM 3 F
2	ดินจากสำนักหอสมุด มหาวิทยาลัย เชียงใหม่	SB 4, AM 4 F
3	ดินจากหอศิลป์ปิ่นมาลา มหาวิทยาลัย เชียงใหม่	SB 5, SB 6, AM 5 F
4	ดินผสมมูลหมักและแกลบ	SB 7, SB 8, SB 9, AM 6 F, AM 7 F
5	ดินโคนต้นชมพู่มะเหมี่ยว	SB 10, AM 8 F
6	ดินโคนต้นน้อยหน่า	SB 11, SB 12, AM 9 F
7	ดินจากน้ำพุร้อนโป่งเดือด (41°C)	SB 13
8	ดินจากน้ำพุร้อนโป่งเดือด (72°C)	SB 14
9	ดินจากน้ำพุร้อนโป่งเดือด (88°C)	SB 15
10	ดินจากบริเวณแหลมสน	SB 16, SB 17
11	ทรายจากหาดแม่พิมพ์	SB 18, SB 19
12	ทรายจากหาดพยุห	SB 20
13	ทรายจากหาดแหลมสิงห์	SB 21
14	ทรายจากหาดบางแสน	SB 22, SB 23
15	ขมจีนแป้งหมักจากตลาด อ. สันทราย	SB 24
16	ข้าวหมากแม่ประเสริฐพร	SB 25, SB 26
17	ลูกแป้งข้าวหมาก อ. สันทราย	SB 27, SB 28, SB 29, SB 30
18	ลูกแป้งจาก จ. สุโขทัย	SB 31
19	ข้าวหมากจากห้างคาร์ฟู	-

ตาราง 8 ตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อ และ ไอโซเลทที่คัดแยกได้ (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ชนิดของตัวอย่าง	ไอโซเลทที่พบ
20	ผักกาดคอง 1	SB 32
21	ผักกาดคอง 2	-
22	ปลาร้าจาก อ.สันทราย	SB 33, SB 34, SB 35
23	ขนมจีนหล่มเก่า	SB 36, SB 37
24	น้ำแช่ข้าว	-
25	น้ำแช่เส้นขนมจีน	SB 38
26	ดินจากน้ำพุร้อน อ.คอยสะเก็ด (36°C)	SB 39, SB 40, SB 41
27	ดินจากน้ำพุร้อน อ.คอยสะเก็ด (40°C)	SB 42, SB 43, SB 44, SB 45
28	ดินจากน้ำพุร้อน อ.คอยสะเก็ด (70°C)	SB 46, SB 47, SB 48, SB 49, SB 50, SB 51
29	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (36°C)	SB 52, SB 53, SB 54, SB 55
30	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (46°C)	SB 56, SB 57, SB 58, SB 59, SB 60, SB 61
31	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (57°C)	SB 62, SB 63, SB 64, SB 65
32	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (63°C)	SB 66, SB 67, SB 68, SB 69, SB 70, SB 71
33	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (74°C)	SB 72, SB 73, SB 74, SB 75, SB 76
34	ดินจากน้ำพุร้อน อ.สันกำแพง (100°C)	-
35	ปลาร้าจากตลาดกวางตี	SB 77
36	มะละกอดอง	SB 78, SB 79
37	มะม่วงดอง	-
38	ชาลาเปา 1	-
39	ชาลาเปา 2	-
40	แจ่ว	SB 80, SB 81, SB 82
41	น้ำผักคอง	-
42	ขนมเล็ก (หึ่งไว้นั้นรา)	-

ตาราง 8 ตัวอย่างที่นำมาแยกเชื้อ และ ไอโซเลทที่คัดแยกได้ (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ชนิดของตัวอย่าง	ไอโซเลทที่พบ
43	ปลาร้าจาก จ.ลำพูน	-
44	ปลาร้าจาก จ. สกลนคร	-
45	น้ำมะขามคอง	-
46	น้ำผักคอง 2	-
47	มะเคื่อ	-
48	หน่อไม้คอง	-
49	ลูกแป้งจากตลาดวโรรส	SB 83, SB 84, SB 85
50	ลูกแป้งจาก อ. แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	SB 86, SB 87, SB 88, SB 89
51	ลูกแป้งจาก อ. สันทราย จ.เชียงใหม่	SB 90, SB 91, SB 92
52	ลูกแป้งจาก อ. แม่ริม จ.เชียงใหม่	SB 93, SB 94
53	ลูกแป้งจาก อ. สารภี จ.เชียงใหม่	SB 95, SB 96, SB 97
54	ลูกแป้งจาก อ. เมือง จ.เชียงใหม่	SB 99, SB 100
55	ลูกแป้งจาก อ.ป่าซาง จ.ลำพูน	SB 101
56	ลูกแป้งจาก อ.แม่แตง จ.เชียงใหม่	SB 102
57	ขนมจีนจากตลาดวโรรส	-
58	ขนมปังจากห้างคาร์ฟูล	AM 10 F, AM 11 F, AA 12, AA 13
59	ขนมปังฟาร์มเฮ้าส์	AM 12 F, AA 14, AA 15
60	ดินจาก อ.ดอกคำใต้ จ.พะเยา	BJ 13, BJ 14, BJ 61, BJ 62, BJ 63, BJ 65,
61	ดินจาก อ.แม่ทะ จ.ลำพูน	SJ 11, SJ 12, SJ 14, SJ 18, SJ 21, SJ 22, SJ 23
62	ดินจากภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัย เชียงใหม่	DJ 21, DJ 22
63	ดินจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ 1	AA 1, AA 2, AA 3, AA 4, AA 5, AA 6
64	ดินจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ 2	AA 7, AA 8, AA 9, AA 10, AA 11

ตาราง 9 ผลการทำงานของจุลินทรีย์ 10 ไอโซเลทในอาหารข้าวกล้อง 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

ไอโซเลท	การย่อยข้าวกล้อง (%)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific Activity (U/mg protein)
SB 8	65.0	6.5	0.20	0.06
SB 14	60.9	6.0	0.19	0.06
SB 16	65.5	6.5	0.24	0.07
SB 24	59.4	5.0	0.17	0.06
SB 29	73.3	8.0	0.27	0.08
SB 31	55.6	5.0	0.19	0.07
SB 86	69.4	7.5	0.24	0.10
SJ 21	53.0	4.0	0.19	0.07
DJ 21	49.3	3.5	0.17	0.06
AM 1 F	53.3	4.5	0.17	0.08

ตาราง 10 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้อง 10 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ เป็นเวลา 3 วัน

อุณหภูมิ	การย่อยข้าวกล้อง (%)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
25°C	56.1	5.5	1.17	0.16
Room temp.	80.5	6.5	2.15	0.14
37°C	89.7	6.8	2.30	0.19
45°C	92.7	7.8	2.41	0.20
55°C	85.8	7.0	2.20	0.17

ตาราง 11 pH เริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมต่อการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้อง 10 เปอร์เซ็นต์ที่ pH ต่าง ๆ บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 วัน

pH	การย่อยข้าวกล้อง (%)	น้ำตาลที่ได้ (°C)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
4.0	62.5	6.3	1.76	0.12
5.0	79.4	8.0	2.15	0.15
6.0	73.4	7.0	1.78	0.11
7.0	65.5	7.8	1.31	0.08
8.0	60.9	7.8	1.45	0.08
9.0	64.2	7.3	1.12	0.06

ตาราง 12 อัตราส่วนอาหารข้าวกล้องที่เหมาะสมต่อการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้องอัตราส่วนต่าง ๆ ที่ปรับ pH เป็น 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 วัน

อาหารข้าวกล้อง (%)	การย่อยข้าวกล้อง (%)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
5	94.5	2.5	0.20	0.14
10	92.3	6.2	0.89	0.20
15	90.0	10.7	0.46	0.17
20	85.3	17.0	0.33	0.14
30	-	-	-	-

หมายเหตุ : ที่อัตราส่วนอาหารข้าวกล้อง 30% พบว่าเชื้อไม่สามารถย่อยอาหารข้าวกล้องได้

ตาราง 13 ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้อง 20 เปอร์เซ็นต์ ที่ปรับ pH เป็น 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 45°C เป็นเวลาต่าง ๆ

วันที่	การย่อยข้าวกล้อง (%)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
0	26.5	0.5	0.39	0.10
1	85.4	4.5	0.92	0.18
2	90.3	6.5	0.96	0.24
3	92.2	7.0	1.02	0.26
4	93.7	5.5	0.84	0.17
5	94.0	5.0	0.26	0.09
6	94.9	4.5	0.21	0.08
7	95.1	3.5	0.18	0.04

ตาราง 14 แสดงอัตราการเจริญและผลการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้อง 15% ที่ปรับ pH เริ่มต้นเป็น 5.0

ชั่วโมงที่	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
0	7.5×10^7	0.5	0.003	-
12	8.1×10^7	1.0	0.056	0.01
24	1.4×10^8	2.0	0.046	0.01
36	9.2×10^7	2.5	0.083	0.02
48	9.7×10^7	2.5	0.103	0.03
60	1.4×10^8	3.0	0.123	0.02
72	2.6×10^8	3.5	0.226	0.05
84	3.3×10^8	4.5	0.256	0.07
96	1.0×10^9	5.5	0.550	0.11
108	2.1×10^9	7.0	0.750	0.05

ตาราง 14 แสดงอัตราการเจริญและผลการทำงานของ *Bacillus* SB 29 ในอาหารข้าวกล้อง 15% ที่ปรับ pH เริ่มต้นเป็น 5.0 (ต่อ)

ชั่วโมงที่	จำนวนเซลล์ (CFU/ml)	น้ำตาลที่ได้ (°Brix)	Amylase activity (U/ml)	Specific activity (U/mg protein)
120	4.2×10^{11}	8.5	1.02	0.24
132	1.1×10^{12}	8.5	1.09	0.26
144	9.4×10^{11}	8.5	0.96	0.21
156	6.6×10^{11}	8.0	0.81	0.18
168	4.2×10^9	7.5	0.65	0.13
180	2.1×10^8	7.0	0.39	0.04

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาวศิริลักษณ์ สันพา

วัน เดือน ปี เกิด 10 มีนาคม 2519

ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2536 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
โรงเรียนคาราวีทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่
ปีการศึกษา 2540 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ที่อยู่ติดต่อได้ 305/15 หมู่ 4 ต. สันทรายน้อย อ. สันทราย
จ. เชียงใหม่ 50210
หมายเลขโทรศัพท์ 053-492501

e-mail address o_sanpa@hotmail.com