ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University

ภาคผนวก ก
การคัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

1. แหล่งที่ทำการคัดแยกจุลินทรีย์

การคัดแยกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบนอาหารแข็งจากตัวอย่างแหล่งดินและกากมันต่าง ๆ ในจังหวัดชลบุรี จังหวัดฉะเชิงเทรา และจังหวัดนครราชสีมาทั้งหมด 20 แหล่ง มีรายละเอียดดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 13 ตัวอย่างแหล่งต่าง ๆ ที่ทำการคัดแยกจุลินทรีย์

ตัวอย่างแหล่งที่	ชนิดตัวอย่าง	แหล่งที่เก็บ
1	ดิน	ร้านก๋วยเตี๋ยวชื่อ "ธรรมชาติ" อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
2	ดิน	หน้าสระว่ายน้ำ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
3	ดิน	ร้านขายลูกชิ้นข้างตึกสิรินธร มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
4	ดิน*	สระน้ำ ด้านหน้าสวนนันทนาการ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
5	ดิน	ตึกภาควิชาเคมีข้างหอประชุมธำรง มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
6	ดิน	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชื่อ "สามชัยพืชผล" อำเภอเสิงสาง จังหวัดนครราชสีมา
7	ดิน	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชื่อ "เอี่ยมเฮง" อำเภอเสิงสาง จังหวัดนครราชสีมา
8	ดิน	ตลาดนัดหลังมหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
9	ดิน	หลังห้างสรรพสินค้าแหลมทอง อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
10	ดินและกากมัน	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชื่อ "ศิริไพศาลพืชผล" อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
11	ดิน	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชื่อ "แคสซาวาอินดัสเทรียลแสงไทยอุตสาหกรรม: STC" อำเภอบางประกง จังหวัดฉะเชิงเทรา
12	กากมัน	โรงงานผลิตแป้งมันสำปะหลัง ชื่อ "สหพืชผลตะวันออก" อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 13 (ต่อ)

ตัวอย่างแหล่งที่	ชนิดตัวอย่าง	แหล่งที่เก็บ
13	ดิน	โรงงานผลิตมันอัดเม็ด ชื่อ "ตันเสวตพืชผล" อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
14	ดิน	ลานตากมันที่ 1 อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
15	ดิน	ลานตากมันที่ 2 อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
16	ดิน	ลานตากมันที่ 3 อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
17	ดิน	ลานตากมันที่ 4 อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
18	ดิน	ลานตากมันที่ 5 อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี
19	เปลือกเผือกต้ม	ร้านค้าเร่ขาย อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี
20	ลูกแป้ง	ร้านค้าของเบ็ดเตล็ด อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี

หมายเหตุ: * หมายถึง เก็บตัวอย่างดินหลังจากนำแป้งมันสำปะหลังไปโรยทิ้งไว้นาน 7 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ผลการคัดแยกจุลินทรีย์จากแหล่งต่าง ๆ

ตารางที่ 14 ผลการคัดแยกจุลินทรีย์จากแหล่งต่าง ๆ ที่สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสบนอาหารแข็ง

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
1	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(1)	1.2
2	เล็ก ครีมเหลือง ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(2)	1.4
3	ปานกลาง ส้ม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(2)	3.0
4	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(3)	1.5
5	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(3)	1.3
6	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(4)	1.6
7	เล็ก ครีมเหลือง ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(4)	2.1
8	เล็ก ส้ม ขอบไม่เรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(5)	1.6
9	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(5)	1.4
10	เล็ก ครีมเหลือง ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(5)	2.0
11	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(5)	1.1
12	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(5)	2.0
13	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(5)	1.4
14	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
15	ใหญ่ ครีมเหลือง ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(6)	1.4

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
16	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.7
17	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
18	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
19	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.7
20	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
21	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
22	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(6)	1.6
23	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.4
24	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.5
25	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(7)	1.2
26	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(7)	1.8
27	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(7)	1.7
28	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
29	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(8)	1.8
30	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
31	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.1
32	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.0

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
33	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
34	เล็ก ครีมเหลือง ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(8)	1.5
35	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.2
36	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบแบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
37	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.2
38	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.1
39	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
40	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
41	เล็ก ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.0
42	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.0
43	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.1
44	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.0
45	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.0
46	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.0
47	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(9)	1.7
48	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.1
49	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
50	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.1
51	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.2
52	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.0
53	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.0
54	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.1
55	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.0
56	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(8)	1.1
57	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.2
58	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.3
59	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.3
60	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(9)	1.2
61	เล็ก ส้ม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(8)	2.0
62	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(9)	2.0
63	เล็ก ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(9)	3.0
64	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
65	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
66	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
67	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.3
68	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
69	ปานกลาง ขาว นูน ผิวหน้าย่นคล้ายกำมะหยี่	แอคติโนมัยซีตีส	(6)	4.2
70	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
71	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.1
72	เล็ก ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(6)	2.6
73	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	2.8
74	ปานกลาง ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(6)	1.2
75	ปานกลาง ขาว นูน ผิวหน้าคล้ายกำมะหยี่	แอคติโนมัยซีตีส	(6)	4.0
76	ปานกลาง ขาว นูน ผิวหน้าคล้ายกำมะหยี่	แอคติโนมัยซีตีส	(6)	4.7
77	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.2
78	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.2
79	ใหญ่ ครีมเหลือง ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.3
80	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.1
81	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.2
82	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.3
83	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
84	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.3
85	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.1
86	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(19)	1.3
87	ปานกลาง ขาว นูน ผิวหน้าคล้ายกำมะหยี่	แอคติโนมัยซีตีส	(6)	1.3
88	ราเส้นใยมีสีขาว สปอร์มีสีเขียวอ่อน	รา	(6)	-
89	ราเส้นใยมีสีขาว สปอร์มีสีดำ	รา	(6)	-
90	ราเส้นใยมีสีขาว สปอร์มีสีเขียวอ่อน	รา	(6)	-
91	ราเส้นใยมีสีขาว สปอร์มีสีเขียวเข้ม	รา	(6)	-
92	ราเส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ	รา	(20)	-
93	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	2.5
94	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	1.6
95	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	2.3
96	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	1.8
97	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(11)	2.8
98	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(11)	1.7
99	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(11)	2.0
100	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(11)	1.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
101	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(11)	1.5
102	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(18)	1.2
103	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(12)	1.2
104	ปานกลาง ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	2.0
105	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	1.4
106	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(14)	1.5
107	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(15)	1.4
108	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(10)	2.0
109	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(10)	1.4
110	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(10)	1.1
111	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(10)	1.6
112	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(10)	1.1
113	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้ามัน	แบคทีเรีย	(10)	2.0
114	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.5
115	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ แบน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.6
116	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.7
117	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 14 (ต่อ)

ไอโซเลตที่	ลักษณะ colony ขนาด / สี / ขอบ / ผิวหน้า	ชนิดของจุลินทรีย์	แหล่ง (ตามตารางในข้อ1)	ประสิทธิภาพการย่อยแป้ง
118	ใหญ่ ครีม ขอบไม่เรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.7
119	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	1.6
120	ใหญ่ ครีม ขอบเรียบ นูน ผิวหน้าไม่มัน	แบคทีเรีย	(13)	2.1

หมายเหตุ: - หมายถึง ไม่สามารถวัดขนาดของบริเวณใสได้

บูรพาวิทยาลัย Burapha University

3. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

3.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับคัดแยกแบคทีเรียและแอคติโนมัยซีตีส และทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง (Hamilton et al., 1999)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10	กรัม
Beef extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

pH 7.0

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับคัดแยกราและทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง (ดัดแปลงจาก Hamilton et al., 1999)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10	กรัม
Potato infusion form	200	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

pH 7.0

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียเพื่อผลิตเอนไซม์ (Inoculum medium) (ดัดแปลงจาก Hamilton et al., 1999)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10	กรัม
Bactopeptone	10	กรัม
Yeast extract	2	กรัม
KH_2PO_4	0.05	กรัม
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.0015	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.25	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.05	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

pH 7.0

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเอนไซม์โดยรา (Production medium) (ดัดแปลงจาก Uguru et al., 1997)

ประกอบด้วย

Soluble starch	20	กรัม
KH_2PO_4	1	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5	กรัม
$NaNO_3$	2	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.001	กรัม
KCl	0.5	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

pH 7.0

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเอนไซม์โดยแบคทีเรีย (Production medium)

(ดัดแปลงจาก Jin et al., 2001)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10	กรัม
Tryptone	4	กรัม
KH_2PO_4	0.5	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.3	กรัม
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	0.2	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.01	กรัม
$MnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.002	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

pH 7.2-7.4

3.1.6 อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับผลิตเอนไซม์โดยแอคติโนมัยซีตีส

(Production medium) (ดัดแปลงจาก Stamford et al., 2001)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10	กรัม
Urea	2	กรัม
KH_2PO_4	0.5	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	0.1	กรัม

pH 7.0

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

3.1.7 อาหารเลี้ยงเชื้อ ISP_2 สำหรับเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยซีตีส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ด้าน TLC (ดัดแปลงจาก www.dsmz.de/media/med 987.htm)

ประกอบด้วย

Soluble starch	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Malt extract	10.0	กรัม
Dextrose	4.0	กรัม

pH 7.2

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารละลายไอโอดีนที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งบนอาหารแข็ง

เตรียมโดยละลายไอโอดีน 0.0317 กรัม และโปแตสเซียมไอโอไดด์ 0.1 กรัม ในน้ำกลั่นที่มีกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 10% ปริมาตร 50 มิลลิลิตรละลายอยู่ ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ข
การวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในอาหารเหลว

1. สารเคมี

1.1 3,5-dinitrosalycylic acid (DNS)

เตรียมโดยชั่งดีเอ็นเอส 10 กรัม ใส่ลงในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่างทีละน้อย (NaOH 16 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร) คนให้ละลายเข้ากัน นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อน จนกระทั่งได้สารละลายใส จากนั้นเติม Potassium sodium tartrate (Rochelle salt) ลงไปทีละน้อยจนครบ 300 กรัม ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

1.2 สารละลายไอโอดีน

เตรียมโดยนำโพทัสเซียมไอโอไดด์ (KI) 5.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเติมไอโอดีน 0.5 กรัม ลงไป คนให้ละลาย แล้วจึงเติม 5N HCl ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงไป ปรับปริมาตรให้ได้ 0.5 ลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.3 สารละลายซับสเตรท คือ น้ำแป้ง (1% Soluble starch solution)

เตรียมโดยละลาย Soluble starch 1.0 กรัม ในสารละลาย 0.1 M Acetate buffer พีเอช 5.5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 55 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใส จากนั้นปรับให้มีอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 35 องศาเซลเซียส

1.4 สารละลาย 0.1 M Acetate buffer pH 4.5 5.0 **และ** 5.5

เตรียมได้จากการเตรียมสารละลาย 0.1 M Acetate buffer โดยผสมสารละลาย A กับสารละลาย B จนได้พีเอชตามที่ต้องการ

Stock solution ได้แก่

สารละลาย A คือ 0.1 M CH_3COOH โดยละลาย 6.005 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย B คือ 0.1 M $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ โดยละลาย 8.203 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

A (มิลลิลิตร)	B (มิลลิลิตร)	pH
46.3	3.7	3.6
44.0	6.0	3.8
41.0	9.0	4.0
36.8	13.2	4.2
30.5	19.5	4.5
25.5	24.5	4.6
20.0	30.0	4.8
14.6	35.4	5.0
10.5	39.5	5.2
8.8	41.2	5.4
6.8	43.2	5.5
4.8	45.2	5.6

ในทางปฏิบัติค่าพีเอชที่ได้อาจคลาดเคลื่อนไปบ้าง จึงต้องวัดค่าพีเอชเพื่อเป็นการตรวจสอบ ถ้าคลาดเคลื่อนให้ปรับพีเอชจนได้ค่าที่ต้องการโดยใช้สารละลาย A หรือ B เติมลงไป

1.5 **สารละลาย** 0.1 M Phosphate buffer pH 6.0

เตรียมได้จากการเตรียมสารละลาย 0.1 M Phosphate buffer โดยผสมสารละลาย A กับสารละลาย B จนได้พีเอชตามที่ต้องการ

Stock solution ได้แก่

สารละลาย A คือ 0.1 M Solution of monobasic sodium phosphate โดยละลาย 27.8 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

สารละลาย B คือ 0.1 M Solution of dibasic sodium phosphate โดยละลาย 53.65 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

A (มิลลิลิตร)	B (มิลลิลิตร)	pH
93.5	6.5	5.7
92.0	8.0	5.8
90.0	10.0	5.9
87.7	12.3	6.0
85.0	15.0	6.1
81.5	18.5	6.2
77.5	2.5	6.3
73.5	26.5	6.4
68.5	31.5	6.5
62.5	37.5	6.6
56.5	43.5	6.7
51.0	49.0	6.8
45.0	55.0	6.9
39.0	61.0	7.0
33.0	67.0	7.1
28.0	72.0	7.2
23.0	77.0	7.3
19.0	81.0	7.4
16.0	84.0	7.5

ในทางปฏิบัติค่าพีเอชที่ได้อาจคลาดเคลื่อนไปบ้าง จึงต้องวัดค่าพีเอชเพื่อเป็นการตรวจสอบ ถ้าคลาดเคลื่อนให้ปรับพีเอชจนได้ค่าที่ต้องการโดยใช้สารละลาย A หรือ B เติมลงไป

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานต่าง ๆ

2.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานสารละลายมาตรฐานกลูโคส

2.1.1 เตรียมโดยชั่งกลูโคส 0.100 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.1.2 จากนั้นทำการเจือจางให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 - 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนี้

หลอดที่	สารละลายกลูโคส (1.0 mg/ml) (ml)	น้ำกลั่น (ml)	สารละลายมาตรฐานกลูโคส (mg/ml)
1	0.0	1.0	0
2	0.2	0.8	0.2
3	0.4	0.6	0.4
4	0.6	0.4	0.6
5	0.8	0.2	0.8
6	1.0	0.0	1.0

2.1.3 ทำการดูดสารละลายมาตรฐานกลูโคส (ความเข้มข้น 0 - 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามตารางข้างต้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2.1.4 เติมสารละลายดีเอ็นเอสปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ลงไป

2.1.5 นำหลอดทดลองไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที

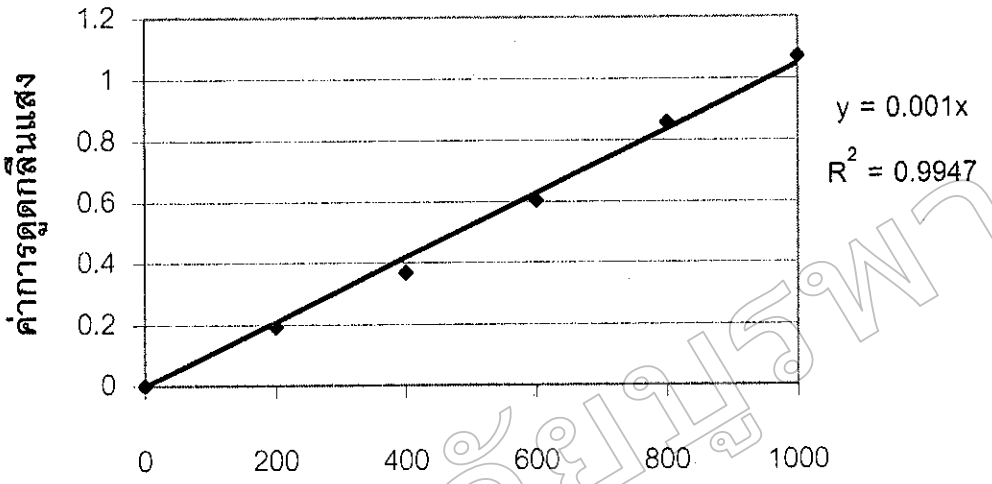
2.1.6 แช่ในอ่างน้ำเย็น 5 นาที

2.1.7 เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน

2.1.8 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

2.1.9 เขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสง(ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) (ภาพที่ 21)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 21 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสกับค่าการดูดกลืนแสง

2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานสารละลายไอโอดีน

2.2.1 ชั่งแป้ง 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดแก้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2.2.2 นำสารละลายไปต้มให้เดือด ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

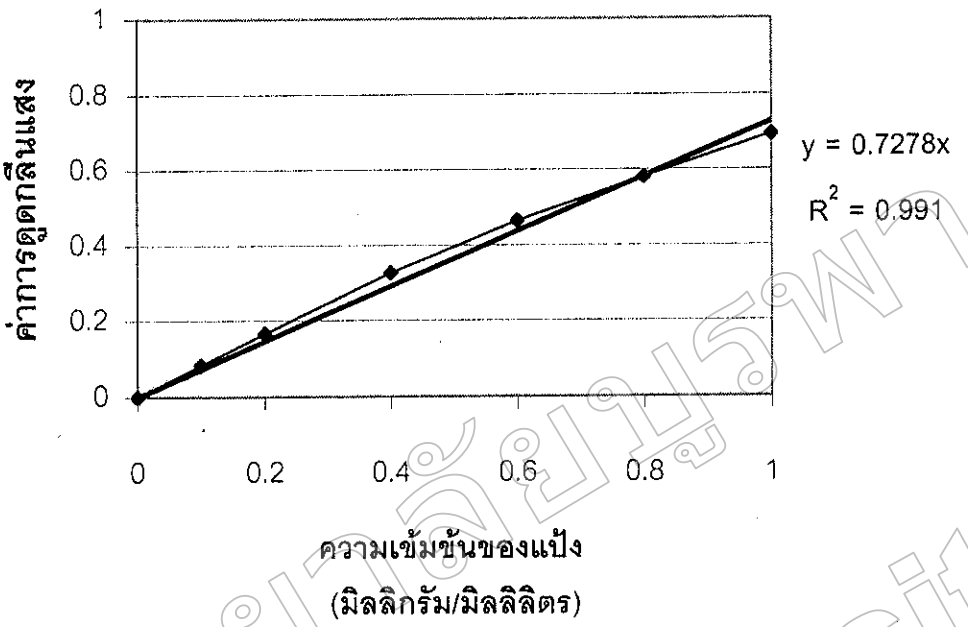
2.2.3 ปิเปตสารละลายปริมาตร 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ปรับปริมาตรให้เป็น 1 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 0.9, 0.8, 0.6, 0.4, 0.2 และ 0 มิลลิลิตร ตามลำดับ

2.2.4 เติมสารละลายไอโอดีน ปริมาตร 5 มิลลิลิตรลงไปในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากัน

2.2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยเทียบกับ Blank ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร แทนสารละลายตัวอย่าง โดยทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 3 ซ้ำ

2.2.6 นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของแป้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) (ภาพที่ 22)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 22 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของแป้ง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ค
การจัดจำแนกจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่คัดเลือกได้

1. วิธีการที่ใช้ในการจัดจำแนกจุลินทรีย์

1.1 **การเพาะเลี้ยงราแบบ** Slide culture (ศิริโฉม, 2543)

1.1.1 เพาะเลี้ยงราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar ที่มีแป้งอยู่ 1% จนไมซีเลียมเจริญเกือบเต็มจานหรือจนสร้างสปอร์

1.1.2 เตรียมจานเพาะเชื้อเปล่า ภายในวางแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม 1 อัน ซึ่งมีแผ่นสไลด์วางอยู่ด้านบน นำไปฆ่าเชื้อ

1.1.3 ใช้เข็มเขี่ยขนาดใหญ่ปลายงอตัดอาหารวุ้น Potato Dextrose Agar ที่มีแป้งอยู่1% เป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 1x1 ซ.ม. นำมาวางบนแผ่นแก้วในจาน

1.1.4 เขี่ยสปอร์หรือเส้นใยของราที่ต้องการศึกษา นำมาแตะลงบนด้านทั้ง 4 ด้านของชิ้นวุ้น ปิดด้านบนของชิ้นวุ้นด้วยกระจกปิดสไลด์ปลอดเชื้อ

1.1.5 บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้องจนเห็นเส้นใย

1.1.6 นำกระจกปิดสไลด์และสไลด์ที่มีราเจริญอยู่ไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 **การเพาะเลี้ยงแอคติโนมัยซีตีสเพื่อตรวจดูลักษณะของเส้นใยและลักษณะของสปอร์** (รัตนาภรณ์, 2541)

1.2.1 เพาะเลี้ยงแอคติโนมัยซีตีสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยขีดลงบนผิวหน้าอาหารเป็นแนวยาวตรงกลางของจานเพาะเชื้อ

1.2.2 ใช้กระจกปิดสไลด์ที่ฆ่าเชื้อแล้ววางเสียบลงไปบนผิวอาหารให้เอียงทำมุมประมาณ 45 องศาเซลเซียส

1.2.3 บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน

1.2.4 นำแผ่นสไลด์ที่เสียบไว้มาย้อมสีแกรมเพื่อตรวจดูลักษณะของเส้นใยและลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

1.3 **การย้อมสีแกรม** (Benson, 1998)

1.3.1 นำสไลด์ที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยความร้อนมาย้อมด้วย Crystal violet ทิ้งไว้นาน 20 วินาที

1.3.2 ล้างด้วยน้ำกลั่น

1.3.3 ย้อมด้วย Gram's Iodine ทิ้งไว้นาน 1 นาที

1.3.4 ล้างด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 95% เป็นเวลานาน 10-20 วินาที จนไม่มีสีม่วงละลายออกมา

1.3.5 ย้อมด้วย Safranin O ทิ้งไว้นาน 20 วินาที

1.3.6 ล้างด้วยน้ำกลั่น

1.3.7 ซับด้วยกระดาษซับจนแห้ง

1.4 **การย้อมสีสปอร์** (Benson, 1998)

1.4.1 นำสไลด์ที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยความร้อนมาหยด Malachite green ให้ท่วมเชื้อที่เกลี่ยไว้ นำสไลด์ไปวางรับไอน้ำเดือด เป็นเวลานาน 10 นาที หรือลนไฟโดยใช้ตะเกียงแอลกอฮอล์ นานประมาณ 5 นาที หากสีแห้งให้เติมสีลงไปอีก

1.4.2 ล้างด้วยน้ำกลั่น

1.4.3 หยด Safranin O ทิ้งไว้นาน 20 วินาที

1.4.4 ล้างด้วยน้ำกลั่น

1.4.5 ซับด้วยกระดาษให้แห้ง

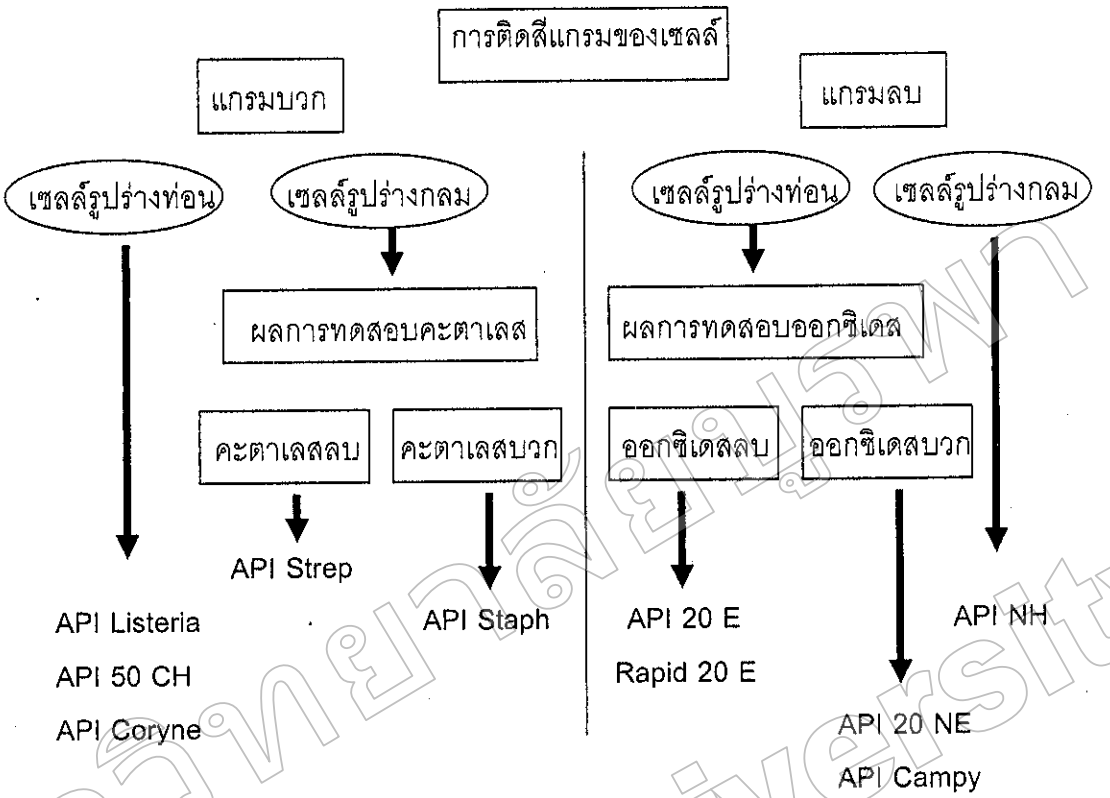
1.5 **การจัดจำแนกแบคทีเรียโดยชุดทดสอบ** API

การจัดจำแนกแบคทีเรียโดย API ของ BIOMERIEUX Industry เป็นระบบชุดทดสอบมาตรฐานในการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยอาศัยหลักการที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

- Enzyme Reaction
- Assimilation
- Acidification
- Susceptibility เป็นต้น

โดยมีฐานข้อมูลเกี่ยวข้องกับแบคทีเรียทั้งหมดประมาณ 760 ชนิด ซึ่งในแต่ละ Microtube ของแต่ละ Strip จะประกอบไปด้วยซับสเตรทที่ถูกทำให้แห้ง โดยผลิตภัณฑ์ชุดทดสอบที่เหมาะสมต่อการเลือกนำมาใช้ในการจัดจำแนกแบคทีเรีย แสดงดังนี้

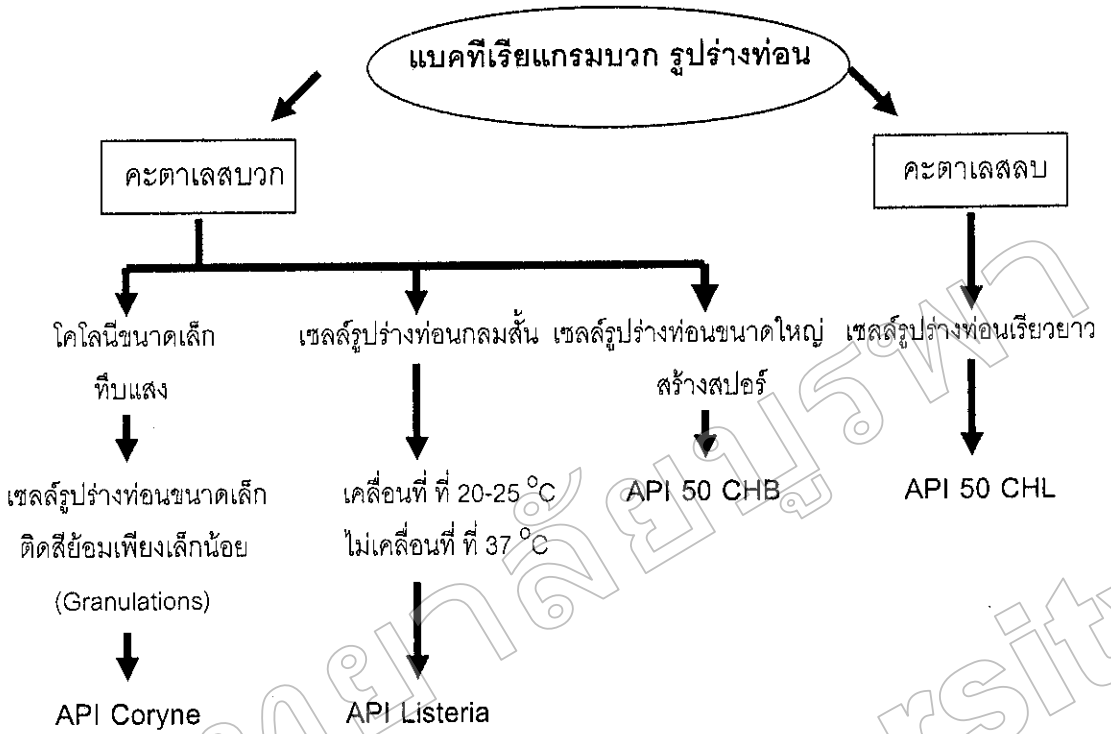
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 23 การเลือกใช้ชุดทดสอบ API ของ BIOMERIEUX Industry (France) ในการจัดจำแนกแบคทีเรียแต่ละกลุ่มที่เหมาะสม

จากผลการจัดจำแนกแบคทีเรียเบื้องต้นที่ได้ พบว่า เป็นแบคทีเรียติดสีแกรมบวก รูปร่างท่อน สร้างสปอร์และให้ผลทดสอบคะตาเลสบวก จึงต้องมีการเลือกใช้ชุดทดสอบที่เหมาะสม ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 24 การเลือกใช้ชุดทดสอบ API ของ BIOMERIEUX Industry (France) ในการจัดจำแนกแบคทีเรียติดสีแกรมบวก รูปร่างท่อน

จากการจัดจำแนกแบคทีเรียเบื้องต้น พบว่า แบคทีเรียทั้งหมดติดสีแกรมบวก รูปท่อน และสร้างสปอร์ จึงเลือกใช้ API 50 CHB ที่เหมาะสมสำหรับการจัดจำแนกแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* และสายพันธุ์ใกล้เคียง ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียที่ติดสีแกรมลบ รูปท่อน (Enterobacteriaceae และ Vibrionaceae)

โดยชุดทดสอบ API 50 CH เป็นระบบชุดทดสอบมาตรฐานที่เกี่ยวข้องกับการทดสอบทางชีวเคมี 50 ชนิด เพื่อศึกษาถึงกระบวนการเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตของ *Bacillus* และสายพันธุ์ใกล้เคียงอื่น ๆ โดยมี API 50 CHB/E เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการจัดจำแนกเชื้อ

หลักการ: API 50 CH Strip ประกอบด้วย 50 Microtubes ที่ใช้ในการศึกษากระบวนการหมักสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและอนุพันธุ์อื่น ๆ (เฮเทอโรไซด์, โพลีแอลกอฮอล์, กรดยูโรนิค) การทดสอบจะทำโดยเพาะเลี้ยงเชื้อลงใน API 50 CHB/E medium ที่มีซับสเตรทที่ถูกทำให้แห้งอยู่ ในระหว่างการบ่มกระบวนการหมักจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีขึ้น เนื่องจากการผลิตกรดในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งสามารถตรวจสอบได้จากค่าพีเอชที่มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น โดยในช่องแรกจะไม่มีสารประกอบใดอยู่เลยเพื่อใช้เป็นชุดควบคุม โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในชุดทดสอบนี้ ได้แก่ การเกิดปฏิกิริยา Oxidation ที่เกี่ยวข้องกับการ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

เปลี่ยนแปลงของสี และปฏิกิริยา Assimilation ที่เกี่ยวข้องกับการใช้ซับสเตรทที่เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของจุลินทรีย์ โดยผลการเกิดเมตาบอลิซึมและการใช้สารอาหารที่ต้องการของจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มที่ทำการทดสอบที่ได้จะนำไปทำการจัดจำแนกแบคทีเรียขั้นต่อไปในโปรแกรมที่กำหนด

ส่วนประกอบของชุดทดสอบ: มีดังนี้

1. API 50 CH Strip
2. Incubation Box
3. Result Sheet
4. Package Insert

สารเคมีที่ใช้ในการทดสอบ: มีดังนี้

1. Inculation Medium (API 50 CHB/E Medium)
2. Mineral Oil
3. McFarland Standard
4. Identification Software

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดสอบ: มีดังนี้

1. PSIPipette
2. Ampule Rack
3. Ampule Protector
4. Swabs
5. อุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการอื่นๆ

วิธีการทดสอบ: มีขั้นตอนดังนี้

1. ทำการเตรียม Inocubation Box โดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปเพื่อให้เกิดความชื้น

2. วางแต่ละ Strip ลงใน Inocubation Box

3. คัดเลือกโคโลนีที่เป็นเชื้อบริสุทธิ์ เขี่ยลงใน API 50 CHB/E Medium โดยเตรียมสารละลายเซลล์ให้ได้ความขุ่นเซลล์เทียบเท่ากับ 2 McFarland ผสมให้เข้ากัน

4. เพาะเลี้ยงเชื้อลงใน Strip โดยเอียง Inocubation Box เล็กน้อย หลีกเลี่ยงการเกิดฟองอากาศที่บริเวณด้านล่างของช่องที่ทำการทดสอบและการเพาะเลี้ยงเชื้อในช่องที่มากเกินไป

5. บ่ม Strip ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละกลุ่ม ดังนี้

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

- สายพันธุ์ที่เป็น Thermophile บ่มที่ 55 ^{o}C $\pm$ 2 ^{o}C นาน 3-31/2 ชั่วโมง, 6-61/2 ชั่วโมง และ 24 $\pm$ 2 ชั่วโมง
- สายพันธุ์อื่น ๆ บ่มที่ 29 ^{o}C $\pm$ 2 ^{o}C นาน 24 $\pm$ 2 ชั่วโมง และ 48 $\pm$ 6 ชั่วโมง

6. การอ่านผลใน Strip ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำการทดสอบ
7. บันทึกผลของแต่ละช่องที่ทำการทดสอบ โดยให้ผลเป็นผลบวก (+), ผลลบ (-) และผลที่ไม่ชัดเจน (?) ลงในใบบันทึกผล แล้วลงผลในโปรแกรมที่กำหนดทำการแปรผลที่ได้

การทดสอบที่ให้ผลบวกจะเกิดจากการสร้างกรด ซึ่ง Phenol Red Indicator จะเปลี่ยนสีจากสีแดงไปเป็นสีเหลือง ถ้าการทดสอบที่ให้ผลบวกมีการเปลี่ยนสีไปเป็นผลลบที่การอ่านผลครั้งที่ 2 ควรบันทึกว่าได้ผลบวก (เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยา Alkalinization เนื่องมาจากการสร้างแอมโมเนียจากเพปโตน) การแปรผลสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่จัดจำแนกได้ (Significant Taxa) ใน Software ที่กำหนดจะต้องมีค่า %ID ที่ได้มากกว่า 80% จึงเป็นค่าที่ยอมรับได้ถึงความแม่นยำของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่นำมาทำการจัดจำแนก หากพบว่าการแปรผลที่ได้มีหลาย Significant Taxa ที่ให้ค่า%ID ใกล้เคียงกัน ควรทำการทดสอบเพิ่มเติมต่าง ๆ ตามคำแนะนำที่ปรากฏไว้เพื่อทำการเปรียบเทียบให้เห็นอย่างชัดเจนถึงความแตกต่างของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่จัดจำแนกได้

ข้อจำกัด มีดังนี้

1. ควรใช้เชื้อที่มีความบริสุทธิ์ในการทดสอบ
2. ควรศึกษาคู่มือก่อนทำการทดสอบ
3. ไม่ควรใช้ชุดทดสอบที่มีความเสียหายและหมดอายุการใช้งาน
4. ควรมีสุขลักษณะในการใช้อย่างระมัดระวังโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ

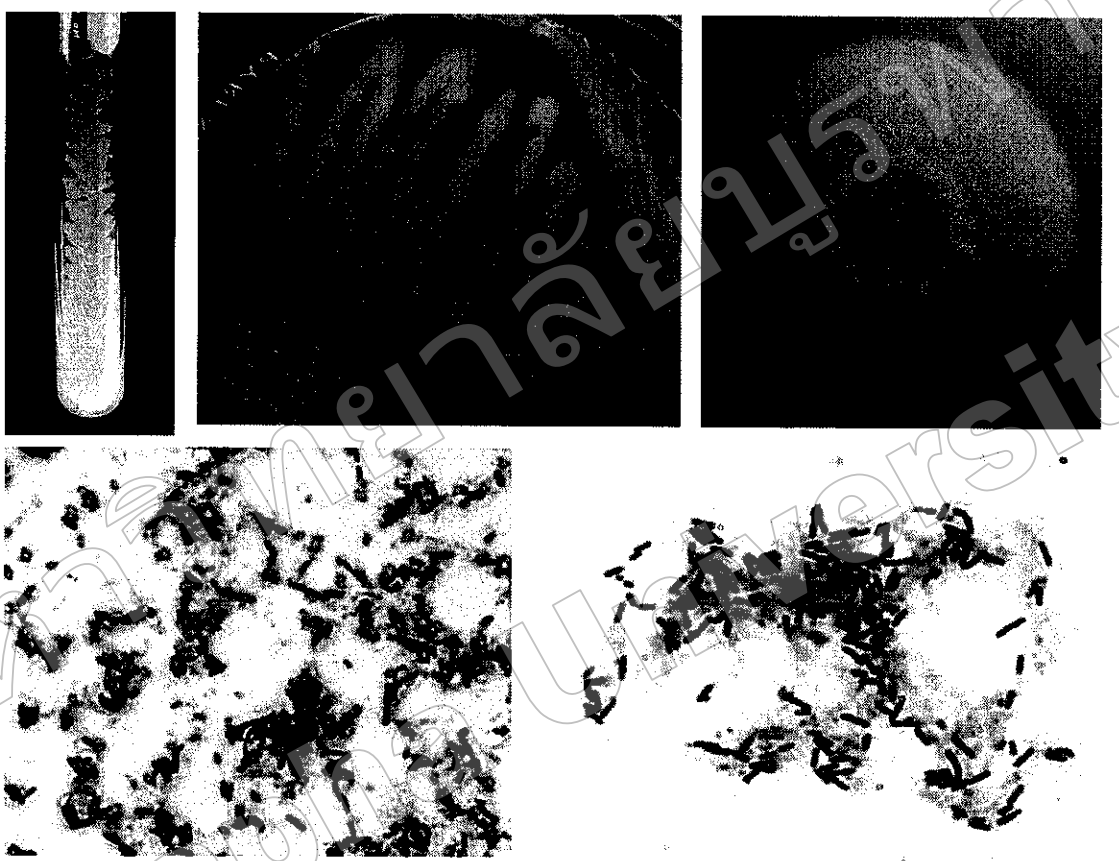
ขอบเขตของการทดสอบ: ผลการทดสอบที่ได้ขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาชีวเคมีที่เกิดขึ้น

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2. ผลการจัดจำแนกจุลินทรีย์ต่าง ๆ

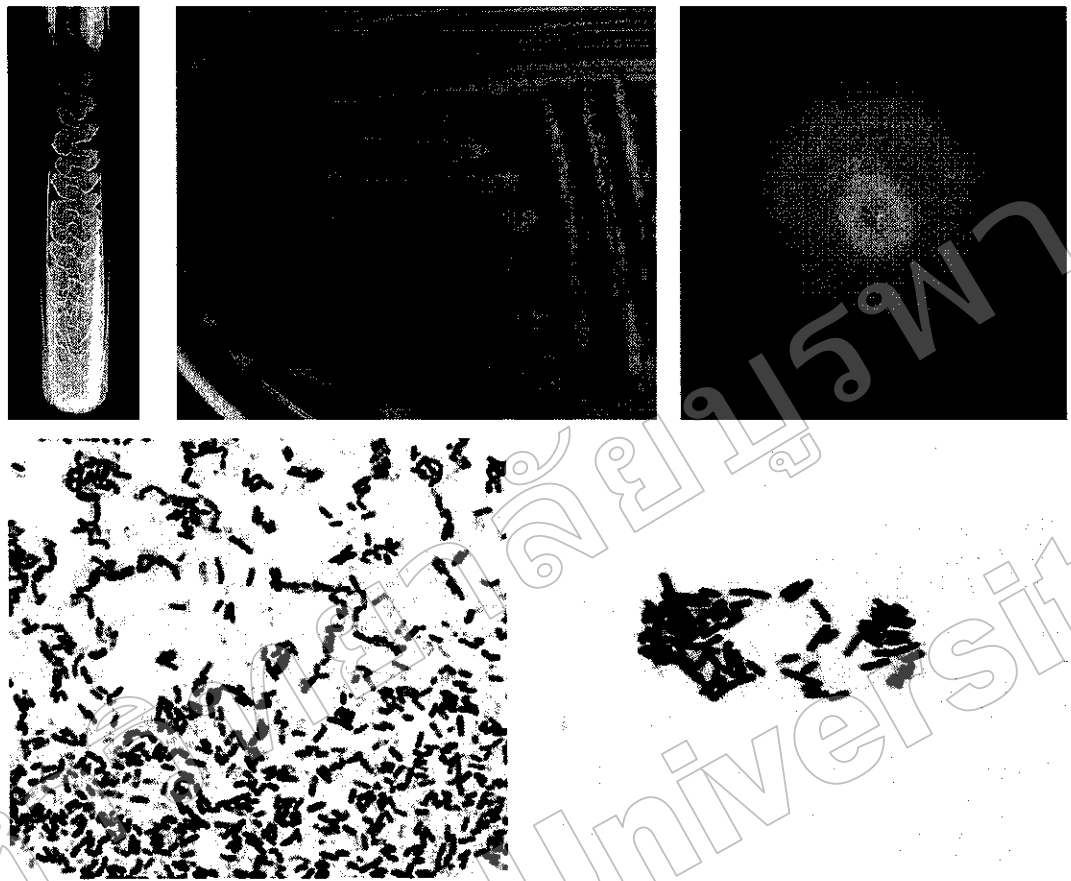
2.1 ลักษณะโคโลนีและลักษณะสัณฐานวิทยา (Morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของจุลินทรีย์ไอโซเลตต่าง ๆ

2.1.1 แบคทีเรียไอโซเลตต่าง ๆ



ภาพที่ 25 ลักษณะโคโลนีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 19 (*B. pumilus*)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

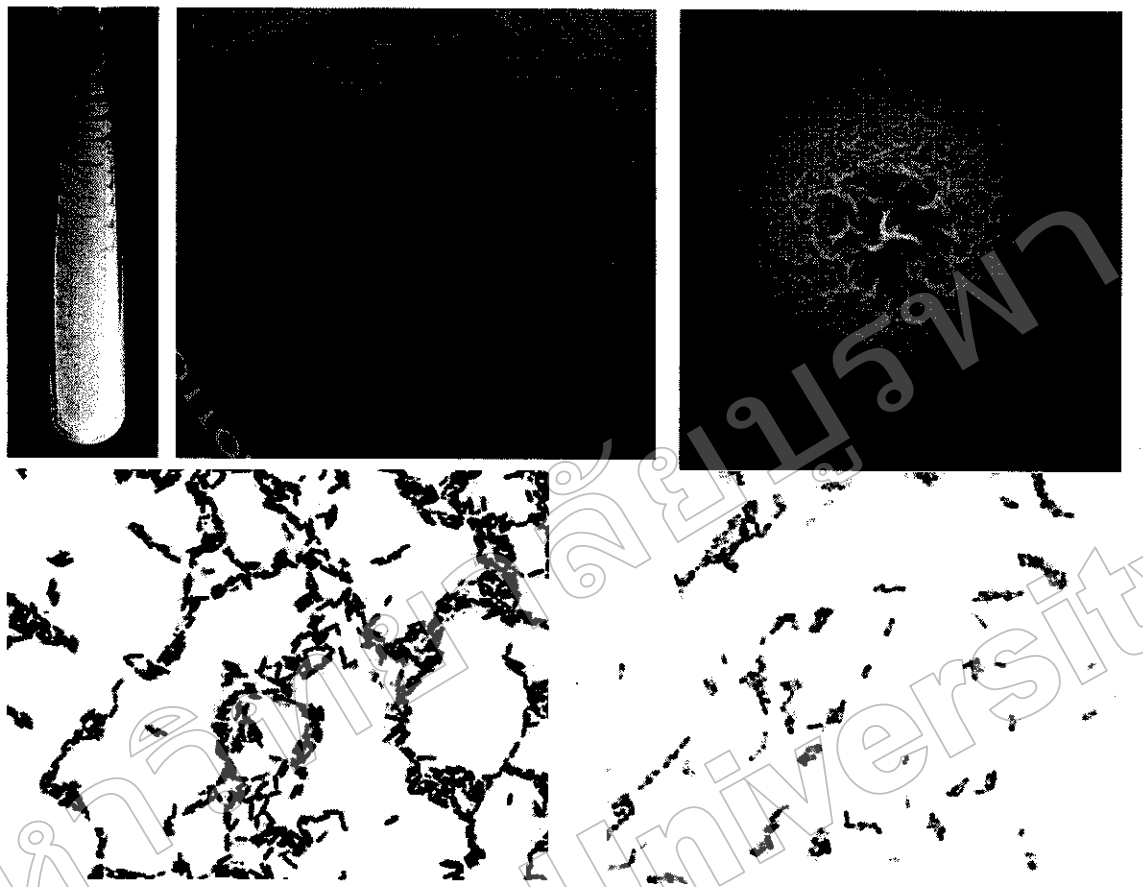


ภาพที่ 26 ลักษณะโคโลนีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรีย
ไอโซเลตที่ 21 (*B. licheniformis*)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาพที่ 27 ลักษณะโคโลนีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 97 (*B. subtilis* LK97)

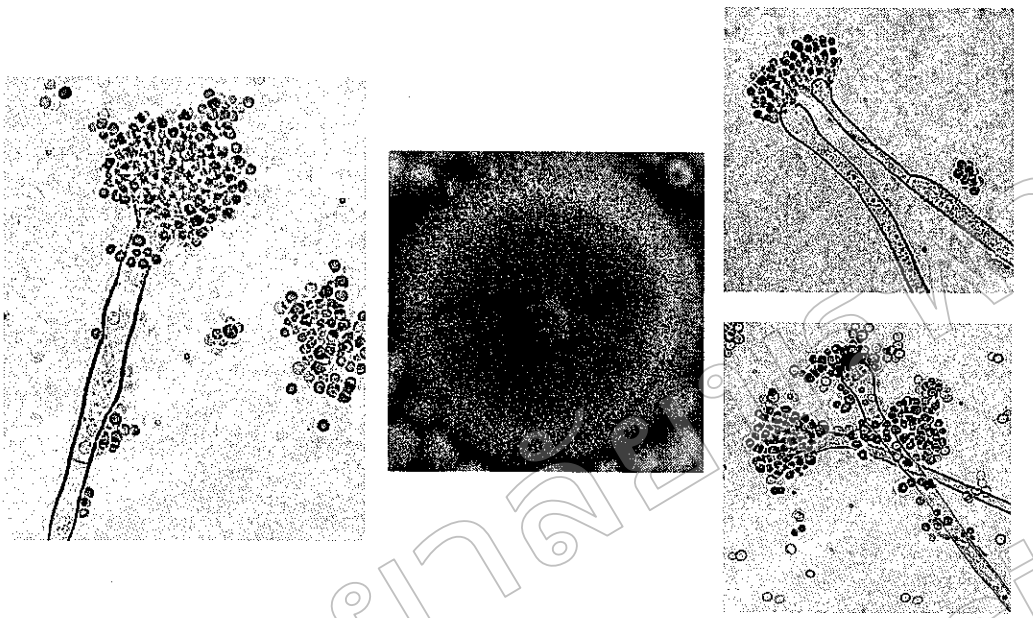
มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



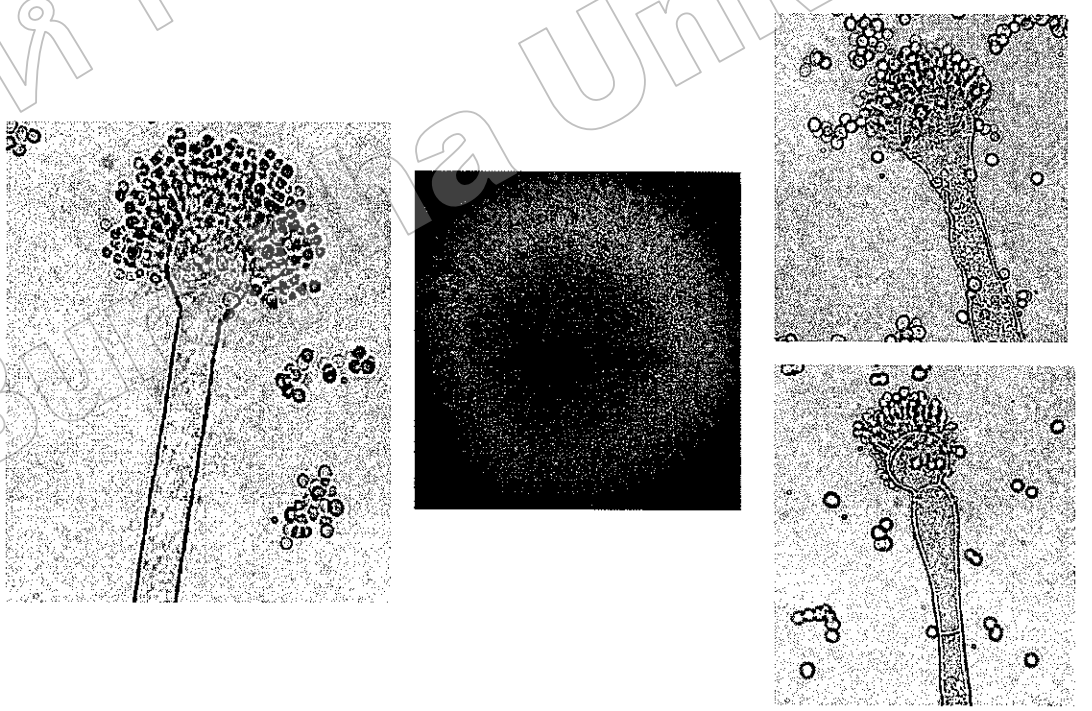
ภาพที่ 28 ลักษณะโคโลนีและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแบคทีเรีย ไอโซเลตที่ 108 (*B. subtilis* LK108)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.1.2 ราไอโซเลตต่าง ๆ



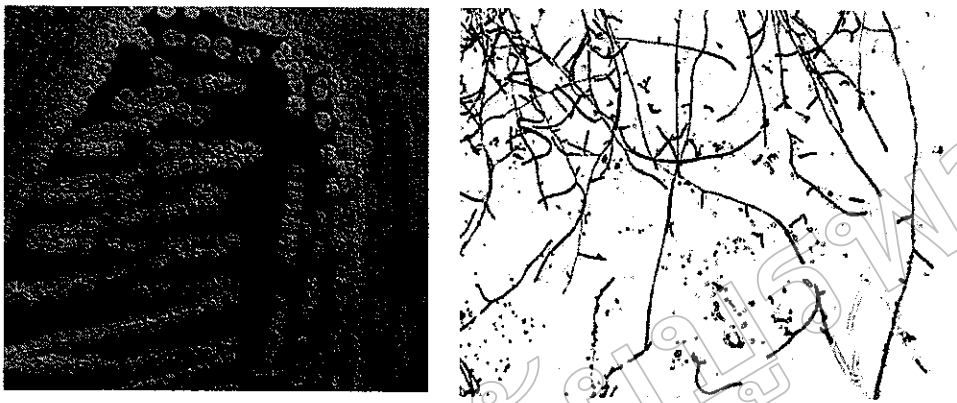
ภาพที่ 29 ลักษณะเส้นใยและโครงสร้างโคนิดิโอฟอร์ของราไอโซเลตที่ 88 (*Aspergillus* sp. LK88)



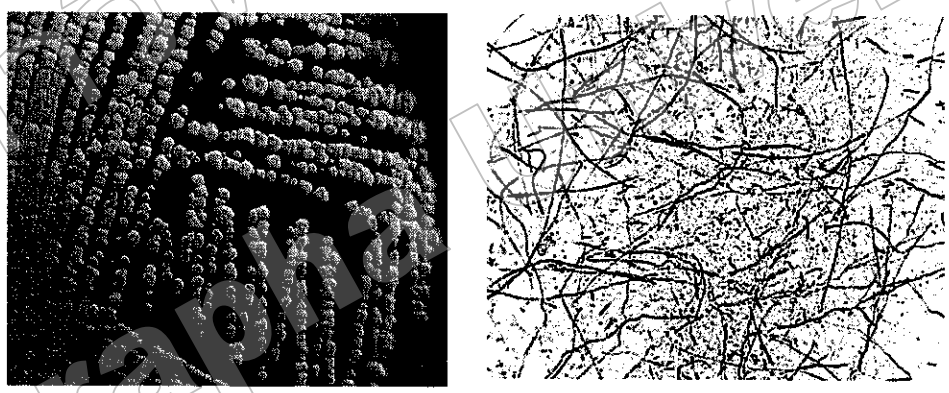
ภาพที่ 30 ลักษณะเส้นใยและโครงสร้างโคนิดิโอฟอร์ของราไอโซเลตที่ 90 (*Aspergillus* sp. LK90)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.1.3 แอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตต่าง ๆ



ภาพที่ 31 ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็งและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตที่ 69 (*Streptomyces* sp. LK69)



ภาพที่ 32 ลักษณะโคโลนีบนอาหารแข็งและลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของแอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตที่ 87 (*Streptomyces* sp. LK87)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2 ผลที่ได้จากวิธีการจัดจำแนกจุลินทรีย์ต่าง ๆ

2.2.1 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้

2.2.1.1 แบคทีเรียไอโซเลตที่ 19

GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip API 50 CHB V3.0

Profile - + - - + + + - - - - + + + + - - - + + - - + - - - + + + + + - + + - - - - - - - - - - - - - - - -

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against								
Bacillus pumilus	91.3	0.35	INO	12%	MDG	22%	ARB	97%			
			GEN	80%	TAG	94%	LAC	7%			
Next taxon	% ID	T	Tests against								
Bacillus subtilis	6.9	0.25	SOR	82%	ARB	95%	LAC	4%	INU	81%	
			AMD	95%	GLYG	96%	GEN	81%			

ภาพที่ 33 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 19

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.1.2 แบคทีเรียไอโซเลตที่ 21

GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip API 50 CHB V3.0

Profile -+--+++---++++---++++-+++++++++--+--+----+---------

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against							
Bacillus licheniformis	91.4	0.47	SAC	96%	AMD	98%	GLYG	91%		
Bacillus subtilis	5.2	0.32	LAC	4%	SAC	99%	INU	81%	AMD	95%
			GLYG	96%	GEN	81%				
Bacillus amyloliquefaciens	3.1	0.25	NAG	79%	LAC	19%	SAC	98%	AMD	95%
			GLYG	89%	GEN	98%				

Next taxon	% ID	T	Tests against							
Bacillus pumilus	0.1	0.11	INO	12%	SOR	1%	MDG	22%	LAC	7%
			SAC	99%	GEN	80%	TAG	94%		

Complementary test(s)	ADH
Bacillus amyloliquefaciens	0%
Bacillus licheniformis	76%
Bacillus subtilis	8%

ภาพที่ 34 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 21

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.1.3 แบคทีเรียไอโซเลตที่ 93

EXCELLENT IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip	API 50 CHB V3.0					
Profile	- + - - - + - - - - - + + - - - - - - - - - + - + + - + + - - + + - - - + + - - - - - - - - - - - -					
Note	POSSIBILITY OF Bacillus thuringiensis					
	IMPORTANT ! "PRESUMPTIVE IDENTIFICATION"					
Significant taxa	% ID	T	Tests against			
Bacillus anthracis	76.7	1.0				
Bacillus cereus 1	19.9	0.96				
Bacillus mycoides	3.2	0.89	GLY 15%			
Next taxon	% ID	T	Tests against			
Brevibacillus laterosporus	0.1	0.64	SAL 77%	SAC 12%	AMD 12%	GLYG 12%
Complementary test(s)		ADH				
Bacillus anthracis		2%				
Bacillus cereus		63%				
Bacillus mycoides		62%				

ภาพที่ 35 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 93

ทดสอบเพิ่มเติมทางชีวเคมีด้านการเคลื่อนที่ของเซลล์ (Motility) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ *B. anthracis* และ *B. cereus* พบว่า แบคทีเรียไอโซเลตที่ 93 สามารถเคลื่อนที่ได้ จากผลการทดสอบที่ได้จึงสามารถจัดจำแนกแบคทีเรียไอโซเลตที่ 93 คือ *B. cereus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.1.4 แบคทีเรียไอโซเลตที่ 97

GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip API 50 CHB V3.0

Profile - + - - + + + - - - - + + + - - + + + + - + - - + + + + + + + + + + - - + + + + - + - - - - - - + - -

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Bacillus subtilis	83.2	0.51	DUL 1% LAC 4% INU 81% GNT 18%
Bacillus licheniformis	16.4	0.46	DUL 1% AMY 96%

Next taxon	% ID	T	Tests against
Bacillus amyloliquefaciens	0.2	0.21	DUL 0% NAG 79% AMY 98% LAC 19% MEL 10%

Complementary test(s)	ADH
Bacillus licheniformis	76%
Bacillus subtilis	8%

ภาพที่ 36 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 97

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.1.5 แบคทีเรียไอโซเลตที่ 108

GOOD IDENTIFICATION TO THE GENUS

Strip API 50 CHB V3.0

Profile - + - - + + - - - - - + + + - - - + + + - + + + - + + + - + + + - - + - - - - + - - - - - - ? - -

Note

Significant taxa	% ID	T	Tests against
Bacillus subtilis	84.3	0.35	SAL 99% INU 81% AMD 95% GLYG 96% GEN 81%
Bacillus licheniformis	14.5	0.3	DXYL 85% SAL 97% AMD 98% GLYG 91%

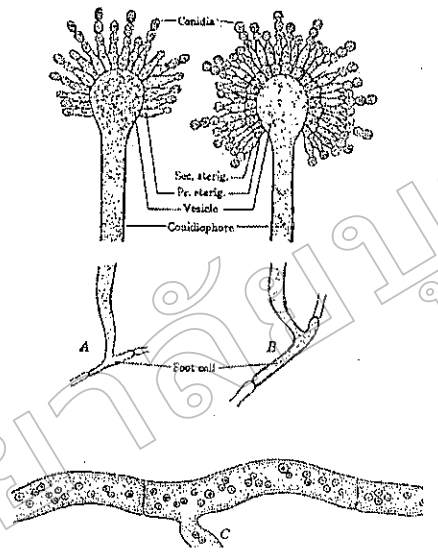
Next taxon	% ID	T	Tests against
Bacillus amyloliquefaciens	1.0	0.11	NAG 79% SAL 98% MEL 10% AMD 95% GLYG 89% GEN 98%

Complementary test(s)	ADH
Bacillus licheniformis	76%
Bacillus subtilis	8%

ภาพที่ 37 ผลการจัดจำแนกแบคทีเรียโดยวิธี API ของแบคทีเรียไอโซเลตที่ 108

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.2 ส่วนประกอบต่าง ๆ ของ *Aspergillus* เมื่อเปรียบเทียบกับลักษณะเส้นใยและโครงสร้างโคนิดิโอฟอร์ที่ได้จากของราไอโซเลตที่คัดเลือกได้



ภาพที่ 38 ลักษณะเส้นใยและโครงสร้างโคนิดิโอฟอร์ของ *Aspergillus*

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2.2.3 ผลการจัดจำแนกแอคติโนมัยซีตีสที่คัดเลือกได้โดยวิธี TLC

ภาพที่ 39 ลักษณะที่ได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบของผนังเซลล์และชนิดของน้ำตาลที่ได้จากการไฮโดรไลซ์เซลล์ (Whole-Cell Hydrolysate) ของแอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตที่ 69 และ 87 โดยวิธี TLC (แสดงถึงการมีกรดไดอะมิโนไพมิลิคและไกลซีนอยู่ในองค์ประกอบของผนังเซลล์ และไม่พบน้ำตาลชนิดใดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์เซลล์ของแอคติโนมัยซีตีสทั้งสองไอโซเลต)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ง
การศึกษาความสามารถในการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

1. ความสามารถในการย่อยสลายแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

ตารางที่ 15 ปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

จุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้	ปริมาณแป้งที่ถูกย่อย (mg/U)
แบคทีเรียไอโซเลตที่ 19 *B. pumilus*	1.9053 ± 0.004
แบคทีเรียไอโซเลตที่ 21 *B. licheniformis*	2.4236 ± 0.009
แบคทีเรียไอโซเลตที่ 97 *B. subtilis* LK97	2.3221 ± 0.001
แบคทีเรียไอโซเลตที่ 108 *B. subtilis* LK108	3.2641 ± 0.001
ราไอโซเลตที่ 88 *Aspergillus* sp. LK88	0.1495 ± 0
ราไอโซเลตที่ 90 *Aspergillus* sp. LK90	0.2570 ± 0.007
แอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตที่ 69 *Streptomyces* sp. LK69	0.2520 ± 0.002
แอคติโนมัยซีตีสไอโซเลตที่ 87 *Streptomyces* sp. LK87	0.3653 ± 0.002

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก จ
ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้

1. ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้

ตารางที่ 16 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Bacillus pumilus	20.36 ± 7.53	10.00 ± 1.70	9.72 ± 2.40	30.15 ± 2.40
Bacillus licheniformis	44.34 ± 17.10	72.60 ± 10.59	72.39 ± 13.70	72.30 ± 13.41
Bacillus subtilis LK97	77.91 ± 21.52	87.91 ± 24.25	97.31 ± 12.06	79.24 ± 19.98
Bacillus subtilis LK108	46.00 ± 9.52	90.06 ± 18.00	61.17 ± 9.07	51.65 ± 5.51

ตารางที่ 17 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Bacillus pumilus	15.41 ± 7.66	17.96 ± 7.43	5.84 ± 1.08	0 ± 0
Bacillus licheniformis	60.74 ± 17.30	72.80 ± 0.82	68.03 ± 9.20	55.81 ± 23.97
Bacillus subtilis LK97	58.53 ± 7.31	75.78 ± 9.22	63.09 ± 3.18	54.48 ± 2.39
Bacillus subtilis LK108	43.13 ± 18.71	35.52 ± 11.90	40.82 ± 6.29	47.08 ± 10.27

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 18 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

แบคทีเรียที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Bacillus pumilus	16.56 ± 3.22	16.68 ± 1.56	11.36 ± 3.25	0 ± 0
Bacillus licheniformis	47.57 ± 5.89	41.89 ± 16.25	74.85 ± 24.22	25.47 ± 6.49
Bacillus subtilis LK97	54.86 ± 18.15	50.93 ± 5.13	67.54 ± 19.54	30.44 ± 1.28
Bacillus subtilis LK108	45.07 ± 4.58	49.30 ± 3.44	37.89 ± 0.55	23.09 ± 11.57

2. ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากราที่คัดเลือกได้

ตารางที่ 19 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากราที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

ราที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Aspergillus sp. LK88	41.04 ± 2.51	99.06 ± 0.10	82.18 ± 1.43	95.64 ± 0.93
Aspergillus sp. LK90	5.11 ± 1.50	41.94 ± 1.32	66.04 ± 0.13	83.95 ± 4.98

ตารางที่ 20 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากราที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ไอโซเลตที่	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Aspergillus sp. LK88	1.80 ± 0.98	0 ± 0	1.8 ± 0.22	9.00 ± 2.16
Aspergillus sp. LK90	3.20 ± 0.36	2.08 ± 0.43	2.91 ± 0.47	8.57 ± 1.72

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 21 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากราที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ไอโซเลตที่	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Aspergillus sp. LK88	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	6.89 ± 1.58
Aspergillus sp. LK90	0 ± 0	3.33 ± 0.59	3.31 ± 0.86	1.41 ± 0.75

ตารางที่ 22 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากราที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ไอโซเลตที่	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Aspergillus sp. LK88	1.86 ± 0.29	0 ± 0	0 ± 0	8.32 ± 0.27
Aspergillus sp. LK90	0 ± 0	4.40 ± 0.07	1.50 ± 0.62	7.92 ± 2.27

3. ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีตีสที่คัดเลือกได้

ตารางที่ 23 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีตีสที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

แอคติโนมัยซีตีสที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Streptomyces sp. LK69	5.72 ± 0.74	24.49 ± 2.08	36.36 ± 1.30	65.39 ± 6.92
Streptomyces sp. LK87	64.35 ± 1.53	64.13 ± 14.13	79.08 ± 6.94	69.45 ± 5.63

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตารางที่ 24 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

แอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Streptomyces sp. LK69	0.69 ± 0.03	2.26 ± 0.88	8.60 ± 0.86	6.68 ± 0.60
Streptomyces sp. LK87	78.02 ± 8.63	82.38 ± 17.68	17.49 ± 3.40	64.48 ± 9.68

ตารางที่ 25 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

แอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Streptomyces sp. LK69	0 ± 0	2.03 ± 0.85	0.57 ± 0.22	3.01 ± 1.32
Streptomyces sp. LK87	40.02 ± 14.82	39.81 ± 7.54	24.65 ± 5.19	48.15 ± 3.61

ตารางที่ 26 ผลของพีเอชต่าง ๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตจากแอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

แอคติโนมัยซีตีส ที่คัดเลือกได้	% Relative Activity			
	pH 4.5	pH 5.0	pH 5.5	pH 6.0
Streptomyces sp. LK69	1.14 ± 0.14	0 ± 0	2.29 ± 0.02	12.06 ± 1.42
Streptomyces sp. LK87	10.34 ± 0.42	31.03 ± 10.39	22.94 ± 9.09	47.91 ± 4.05

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ภาคผนวก ฉ
สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

1. **ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป** SPSS (Version 11.0)

ตัวอย่างการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดสอบผลของการทนต่ออุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่พีเอช 4.5 ของเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียที่คัดเลือกได้โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS แสดงดังนี้

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		N
BACTERIA	*B. pumilus*	3
	B. subtilis LK108	3
	B. subtilis LK97	3
	B. licheniformis	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DATA

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2547.784	3	849.261	8.585	.007
Intercept	20188.403	1	20188.403	204.091	.000
BACTERIA	2547.784	3	849.261	8.585	.007
Error	791.349	8	98.919		
Total	23527.536	12			
Corrected Total	3339.133	11			

a R Squared = .763 (Adjusted R Squared = .674)

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

Post Hoc Tests

BACTERIA

Multiple Comparisons

Dependent Variable: DATA

LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	95% Confidence Interval
(I) BACTERIA	(J) BACTERIA				Lower Bound	Upper Bound
B. pumilus	*B. subtilis* LK108	-28.5133*	8.12070	.008	-47.2397	-9.7870
	B. subtilis LK97	-38.3033*	8.12070	.002	-57.0297	-19.5770
	B.licheniformis	-31.0100*	8.12070	.005	-49.7364	-12.2836
B. subtilis LK108	*B. pumilus*	28.5133*	8.12070	.008	9.7870	47.2397
	B. subtilis LK97	-9.7900	8.12070	.262	-28.5164	8.9364
	B.licheniformis	-2.4967	8.12070	.766	-21.2230	16.2297
B. subtilis LK97	*B. pumilus*	38.3033*	8.12070	.002	19.5770	57.0297
	B. subtilis LK108	9.7900	8.12070	.262	-8.9364	28.5164
	B.licheniformis	7.2933	8.12070	.395	-11.4330	26.0197
B.licheniformis	*B. pumilus*	31.0100*	8.12070	.005	12.2836	49.7364
	B. subtilis LK108	2.4967	8.12070	.766	-16.2297	21.2230
	B. subtilis LK97	-7.2933	8.12070	.395	-26.0197	11.4330

Based on observed means.

* The mean difference is significant at the .05 level.

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University