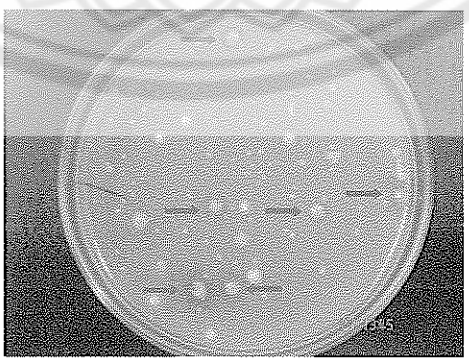
# บทที่ 4

# ผลการวิจัย

## การคัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส

คัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินตัวอย่างที่ได้จากป่าธรรมชาติชนิดต่างๆ และทุ่งหญ้าในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ อุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว และอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า จำนวน 64 ตัวอย่าง โดยใช้อาหาร nutrient agar ที่มีน้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจะสร้างรอยใสรอบโคโลนีบนอาหารที่ใช้คัดแยกเมื่อมีการผลิตเอนไซม์ไลเปสออกมาย่อยน้ำมันมะกอกที่เป็นสับสเตรทเพื่อนำไปสังเคราะห์เป็นพลังงานและองค์ประกอบของเซลล์ (ภาพ 9) ผลการทดลองสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจำนวน 326 ไอโซเลท (ตาราง 4) ซึ่งมีสัณฐานวิทยาของโคโลนีแต่ละไอโซเลทที่เจริญบนอาหาร nutrient agar แตกต่างกัน (ตาราง 5) และจากคุณสมบัติการติดสีย้อมแบบแกรม แยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดแยกได้เป็น 2 กลุ่มคือ แบคทีเรีย แกรมลบรูปท่อน 306 ไอโซเลท และแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน 16 ไอโซเลท และรูปร่างกลม 4 ไอโซเลท โดยแบคทีเรียแกรมบวกแยกได้จากดินตัวอย่างของเขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ จำนวน 18 ไอโซเลท และดินตัวอย่างของอุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า 2 ไอโซเลท ส่วนดินตัวอย่างจากอุทยานแห่งชาติน้ำหนาวและอุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวงพบเฉพาะแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบเท่านั้น จากสัณฐาณวิทยาของเซลล์ทั้งหมดที่กล่าวมาแบ่ง กลุ่มของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดแยกได้เป็น 8 กลุ่ม โดยพิจารณาคุณสมบัติการติดสีย้อมแบบแกรม ลักษณะรูปร่างขอบ และสีโคโลนีของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหาร NA (ตาราง 5)



**ภาพ 9 ลักษณะโคโลนีแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสบนอาหารดัดแปลง** nutrient agar

ตาราง 4 แสดงจำนวนแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดแยกได้

| พื้นที่ | จำนวนไอโซเลทของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | ดินตัวอย่าง 1 | ดินตัวอย่าง 2 | ดินตัวอย่าง 3 | ดินตัวอย่าง 4 | รวม |
| เขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ | | | | | |
| ป่าดิบเขา | 6 | 4 | 6 | 4 | 20 |
| ป่าดิบชื้น | 2 | 5 | 5 | 3 | 15 |
| ป่าดิบแล้ง | 6 | 3 | 4 | 6 | 19 |
| ทุ่งหญ้า | 4 | 4 | 2 | 3 | 13 |
| อุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง | | | | | |
| ป่าดิบเขา | 4 | 6 | 6 | 4 | 20 |
| ป่าดิบแล้ง | 4 | 5 | 4 | 4 | 17 |
| ป่าสน | 6 | 4 | 4 | 4 | 18 |
| ทุ่งหญ้า | 4 | 4 | 4 | 6 | 18 |
| อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว | | | | | |
| ป่าดิบเขา | 6 | 5 | 5 | 6 | 22 |
| ป่าดิบชื้น | 8 | 10 | 7 | 8 | 33 |
| ป่าสน | 6 | 8 | 8 | 6 | 28 |
| ป่าเต็งรัง | 4 | 4 | 7 | 5 | 20 |
| ป่าเบญจพรรณ | 6 | 9 | 6 | 8 | 29 |
| อุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า | | | | | |
| ป่าดิบเขา | 4 | 6 | 6 | 4 | 20 |
| ป่าสน | 6 | 4 | 4 | 4 | 18 |
| ป่าเต็งรัง | 4 | 5 | 4 | 3 | 16 |
| **รวม** | | | | | 326 |

ตาราง 5 แสดงลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดแยกได้

| กลุ่ม | เซลล์ | | | โคโลนี | | | ไอโซเลท |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | แกรม | รูปร่าง | การจัดเรียงตัว | รูปร่าง | ขอบ | สี | |
| 1 | – | rod | single | round | smooth | white | 110 |
| 2 | – | rod | single | round | rough | white | 42 |
| 3 | – | rod | chain | round | rough | white | 21 |
| 4 | – | rod | single | round | smooth | yellow | 55 |
| 5 | – | rod | single | round | rough | yellow | 78 |
| 6 | + | rod | single | spindle | rough | white | 2 |
| 7 | + | rod | chain | round | rough | white | 14 |
| 8 | + | coccus | staphylococcus | round | smooth | white | 4 |

**การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นต้น**

จากการคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นต้น โดยพิจารณาจากค่าดัชนีเอนไซม์ (Enzyme Index : EI) ผลการทดลองแบ่งกลุ่มแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสได้เป็น 4 กลุ่ม คือ กลุ่มที่หนึ่ง แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีค่าดัชนีเอนไซม์ตั้งแต่ 2 ($EI \geq 2$) ขึ้นไปภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง จำนวน 46 ไอโซเลท กลุ่มที่สอง แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีค่าดัชนีเอนไซม์น้อยกว่า 2 แต่สังเกตได้ชัดเจน ($EI < 2$) จำนวน 154 ไอโซเลท กลุ่มที่สาม แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีค่าดัชนีเอนไซม์น้อยกว่า 2 สังเกตได้ไม่ชัดเจน ($EI < 2$) จำนวน 79 ไอโซเลท และกลุ่มสุดท้าย คือ แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ไม่ให้ค่าดัชนีเอนไซม์ใน 48 ชั่วโมง ($EI = 0$) จำนวน 47 ไอโซเลท (ตาราง 6)

แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสในกลุ่มที่หนึ่งจำนวน 7 ไอโซเลทมีค่าดัชนีเอนไซม์น้อยกว่า 2 ที่ 24 ชั่วโมง แต่มีค่าดัชนีเอนไซม์ตั้งแต่ 2 ขึ้นไปที่ 48 ชั่วโมง (ตาราง 7) แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจำนวน 9 ไอโซเลทมีค่าดัชนีเอนไซม์ลดลงน้อยกว่า 2 ที่ 48 ชั่วโมง เนื่องจากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเพิ่มขึ้น (แบคทีเรียมีการเจริญเพิ่มขึ้น) แต่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางรอยใสคงที่หรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ค่าดัชนีเอนไซม์จึงลดลง (ตาราง 8)

ตาราง 6 แสดงค่าดัชนีเอนไซม์ (EI) ของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสภายใน 48 ชั่วโมง

| พื้นที่ | จำนวนแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส (ไอโซเลท) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | EI>2, รอยใส ชัดเจน | EI<2, รอยใส ชัดเจน | EI<2, รอยใส ไม่ชัดเจน | ไม่เกิด รอยใส |
| เขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ | 11 | 34 | 13 | 9 |
| อุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง | 14 | 24 | 23 | 12 |
| อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว | 17 | 60 | 35 | 20 |
| อุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า | 4 | 36 | 8 | 6 |
| รวม | 46 | 154 | 79 | 47 |

ตาราง 7 แสดงค่าดัชนีเอนไซม์ (EI) ของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 46 ไอโซเลท ที่ 24 ชั่วโมง

| รหัสเชื้อ | EI | รหัสเชื้อ | EI | รหัสเชื้อ | EI |
|---|---|---|---|---|---|
| KH11 | 1.50 | TC42 | 2.00 | NH15 | 1.50 |
| KH33 | 2.75 | TC44 | 2.75 | NH45 | 2.40 |
| KH42 | 1.50 | TH13 | 2.50 | ND35 | 2.00 |
| KE15 | 3.00 | TH24 | 2.00 | NM12 | 2.20 |
| KE43 | 3.00 | TH31 | 2.00 | NM22 | 2.20 |
| KT33 | 1.75 | TH44 | 2.50 | NM25 | 2.25 |
| KS11 | 2.50 | TE21 | 2.00 | NM43 | 2.00 |
| KS12 | 2.00 | TS11 | 2.00 | NT11 | 2.34 |
| KS21 | 2.00 | TS46 | 2.00 | NT23 | 1.88 |
| KS23 | 1.67 | NC13 | 2.42 | NT27 | 2.00 |
| KS24 | 1.75 | NC23 | 2.00 | NT42 | 2.00 |
| TC13 | 2.00 | NC24 | 2.00 | PC11 | 3.50 |
| TC16 | 3.50 | NC31 | 2.00 | PC31 | 2.00 |
| TC24 | 2.00 | NC33 | 2.00 | PC32 | 3.00 |
| TC32 | 2.34 | NH11 | 2.50 | PC43 | 2.00 |
| TC41 | 2.29 | | | | |

หมายเหตุ: K คือ เขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขาค้อ T คือ อุทยานแห่งชาติทุ่งแสลงหลวง
N คือ อุทยานแห่งชาติน้ำหนาว P คือ อุทยานแห่งชาติภูหินร่องกล้า
H = ดินป่าดิบเขา E = ดินป่าดิบแล้ง
T = ดินป่าดิบชื้น S = ดินทุ่งหญ้า
C = ดินป่าสน D = ดินป่าเต็ง-รัง
M = ดินป่าเบญจพรรณ

ตาราง 8 แสดงค่าดัชนีเอนไซม์ (EI) ของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 46 ไอโซเลท ที่ 48 ชั่วโมง

| รหัสเชื้อ | EI | รหัสเชื้อ | EI | รหัสเชื้อ | EI |
|---|---|---|---|---|---|
| KH11 | 2.00 | TC42 | 2.00 | NH15 | 2.00 |
| KH33 | 3.00 | TC44 | 2.40 | NH45 | 2.50 |
| KH42 | 2.00 | TH13 | 1.50 | ND35 | 3.00 |
| KE15 | 3.00 | TH24 | 2.30 | NM12 | 2.67 |
| KE43 | 3.00 | TH31 | 2.00 | NM22 | 2.83 |
| KT33 | 2.00 | TH44 | 1.50 | NM25 | 2.50 |
| KS11 | 3.00 | TE21 | 2.00 | NM43 | 1.92 |
| KS12 | 2.67 | TS11 | 2.00 | NT11 | 2.83 |
| KS21 | 2.00 | TS46 | 1.40 | NT23 | 2.00 |
| KS23 | 2.22 | NC13 | 2.21 | NT27 | 2.25 |
| KS24 | 2.00 | NC23 | 2.67 | NT42 | 1.84 |
| TC13 | 1.25 | NC24 | 2.75 | PC11 | 3.60 |
| TC16 | 3.50 | NC31 | 1.80 | PC31 | 2.34 |
| TC24 | 1.40 | NC33 | 3.00 | PC32 | 3.00 |
| TC32 | 1.84 | NH11 | 2.57 | PC43 | 2.67 |
| TC41 | 2.17 | | | | |

การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นยืนยัน

1. การวัดความสามารถในการผลิตกรดไขมันของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส

การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นยืนยันโดยสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงสีของ Bromocresol purple (BCP) จากสีม่วงอมแดงไปเป็นสีเหลืองโดยใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด จากการทดลองพบว่า แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 3 ไอโซเลท เปลี่ยนสีของ BCP ภายใน 12 ชั่วโมง และ 4 ไอโซเลท เปลี่ยนสีของ BCP ภายใน 24 ชั่วโมง แต่แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสส่วนใหญ่เปลี่ยนสีของ BCP ได้ตั้งแต่ 48 ชั่วโมงขึ้นไป (ตาราง 9)

ตาราง 9 แสดงระยะเวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนแปลงสี bromocresol purple ของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส

| ระยะเวลา (ชั่วโมง) | รหัสเชื้อที่เปลี่ยนสี bromocresol purple | ไอโซเลท |
|---|---|---|
| 12 | PC31 PC43 KS11 | 3 |
| 24 | TC44 TC16 NM25 NT27 | 4 |
| 36 | TH44 TH24 TC42 NM43 | 4 |
| 48 | TE21 TH31 TH13 TS46 NC24 NT42 | 6 |
| 60 | TC43 TC24 TC32 NM12 KE15 KE43 KS23 | 7 |
| 72 | TC41 NC13 NC22 NH45 NC23 KS21 KS12 KH33 | 8 |
| 84 | TS11 NH15 NT23 NT11 KT33 | 5 |
| 96 | PC32 PC11 NC33 NM22 ND35 NC31 NH11 KS24 KH42 | 9 |

2. การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส

กิจกรรมจำเพาะเอนไซม์สูงที่สุด คือ ไอโซเลท TC16 KS11, TC44 โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ไลเปสเท่ากับ 55.06, 54.46 และ 51.58 (U/mg protein) ตามลำดับ (ตาราง 10) คัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลท เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส

ตาราง 10 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียที่คัดแยกได้

| รหัสเชื้อ | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | รหัสเชื้อ | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) |
|---|---|---|---|
| KH11 | 33.52 | TS11 | 34.24 |
| KH33 | 30.79 | TS46 | 26.22 |
| KH42 | 33.90 | NC13 | 40.08 |
| KE15 | 34.47 | NC23 | 41.17 |
| KE43 | 26.55 | NC24 | 26.19 |
| KT33 | 33.63 | NC31 | 29.22 |
| KS11 | 54.46 | NC33 | 30.52 |
| KS12 | 21.89 | NH11 | 41.58 |
| KS21 | 34.11 | NH15 | 47.67 |
| KS23 | 16.07 | NH45 | 23.09 |
| KS24 | 25.96 | ND35 | 45.15 |
| TC13 | 39.67 | NM12 | 28.85 |
| TC16 | 55.06 | NM22 | 31.13 |
| TC24 | 21.00 | NM25 | 21.72 |
| TC32 | 26.80 | NM43 | 26.33 |
| TC41 | 23.33 | NT11 | 35.96 |
| TC42 | 41.33 | NT23 | 32.08 |
| TC44 | 51.58 | NT27 | 26.62 |
| TH13 | 21.08 | NT42 | 17.28 |
| TH24 | 15.92 | PC11 | 25.17 |
| TH31 | 19.11 | PC31 | 32.90 |
| TH44 | 14.83 | PC32 | 30.72 |
| TE21 | 31.69 | PC43 | 19.35 |

**ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย**

**1. อุณหภูมิที่เหมาะสม**

วิเคราะห์การเจริญจากปริมาณชีวมวลที่ผลิตได้ในรูปของน้ำหนักเซลล์แห้ง และค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ตามหลักการทางสถิติ เมื่อเพาะเลี้ยงไอโซเลท KS11, TC16 และ TC44 ที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่า ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งที่เวลา 0 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของทุกอุณหภูมิมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลทมีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง (ตาราง 11 และ 12)

ตาราง 11 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสเจริญที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | เวลา (ชั่วโมง) | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 30°C | 35°C | 37°C | 40°C |
| KS11 | 0 | 12.74$^{NS}$ | 11.37$^{NS}$ | 11.44$^{NS}$ | 11.16$^{NS}$ |
| | 24 | 29.61* | 22.73* | 18.45* | 14.90* |
| | 48 | 42.62* | 28.41* | 21.94* | 16.25* |
| TC16 | 0 | 14.59$^{NS}$ | 13.06$^{NS}$ | 13.10$^{NS}$ | 15.19$^{NS}$ |
| | 24 | 22.82* | 20.45* | 19.30* | 18.11* |
| | 48 | 43.11* | 27.02* | 22.78* | 17.50* |
| TC44 | 0 | 14.47$^{NS}$ | 13.95$^{NS}$ | 14.36$^{NS}$ | 13.38$^{NS}$ |
| | 24 | 34.34* | 29.47* | 22.36* | 19.61* |
| | 48 | 38.29* | 36.73* | 23.25* | 20.69* |

**หมายเหตุ:** ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 12 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส เจริญที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | เวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | 30°C | 35°C | 37°C | 40°C |
| KS11 | 0 | 0.003 NS | 0.003 NS | 0.004 NS | 0.003 NS |
| | 24 | 0.766* | 0.444* | 0.360* | 0.100* |
| | 48 | 1.230* | 0.887* | 0.607* | 0.330* |
| TC16 | 0 | 0.003 NS | 0.003 NS | 0.004 NS | 0.005 NS |
| | 24 | 0.634* | 0.478* | 0.410* | 0.180* |
| | 48 | 0.975* | 0.723* | 0.45* | 0.327* |
| TC44 | 0 | 0.005 NS | 0.003 NS | 0.004 NS | 0.004 NS |
| | 24 | 0.700* | 0.540* | 0.467* | 0.217* |
| | 48 | 1.100* | 0.853* | 0.633* | 0.400* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

2. ค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

จากผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งตามหลักการทางสถิติ เมื่อเพาะเลี้ยงไอโซเลท KS11, TC16 และ TC44 ในอาหารพีเอชแตกต่างกัน พบว่าค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่เวลา 0 ชั่วโมง และพีเอช 10 ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของพีเอช 6-9 มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า ที่เวลา 0 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของทุกพีเอชมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลทมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารพีเอช 9 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง (ตาราง 13 และ 14)

ตาราง 13 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสเจริญในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | ระยะเวลา (ชั่วโมง) | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | pH 5 | pH 6 | pH 7 | pH 8 | pH 9 | pH 10 |
| KS11 | 0 | 9.04$^{NS}$ | 8.96$^{NS}$ | 11.32$^{NS}$ | 10.20$^{NS}$ | 12.44$^{NS}$ | 10.82$^{NS}$ |
| | 24 | 22.96* | 29.32* | 32.46* | 35.46* | 37.99* | 9.81$^{NS}$ |
| | 48 | 27.25* | 31.63* | 35.71* | 46.34* | 51.95* | 10.67$^{NS}$ |
| TC16 | 0 | 9.12$^{NS}$ | 11.00$^{NS}$ | 10.18$^{NS}$ | 10.78$^{NS}$ | 10.87$^{NS}$ | 10.78$^{NS}$ |
| | 24 | 18.80* | 21.12* | 26.10* | 29.99* | 30.10* | 13.39$^{NS}$ |
| | 48 | 22.18* | 25.88* | 29.35* | 35.96* | 48.36* | 14.67$^{NS}$ |
| TC44 | 0 | 11.80$^{NS}$ | 11.34$^{NS}$ | 13.26$^{NS}$ | 13.51$^{NS}$ | 13.46$^{NS}$ | 10.41$^{NS}$ |
| | 24 | 15.04* | 16.13* | 19.04* | 25.51* | 33.62* | 9.78$^{NS}$ |
| | 48 | 25.51* | 23.74* | 30.70* | 35.87* | 39.51* | 13.11$^{NS}$ |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 14 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส เจริญในอาหารที่มีค่าพีเอชเริ่มต้นแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | ระยะเวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | pH 5 | pH 6 | pH 7 | pH 8 | pH 9 | pH 10 |
| KS11 | 0 | 0.001 NS | 0.004 NS | 0.003 NS | 0.003 NS | 0.004 NS | 0.003 NS |
| | 24 | 0.167* | 0.267* | 0.467* | 0.667* | 0.733* | 0.133* |
| | 48 | 0.367* | 0.500* | 0.800* | 1.700* | 1.867* | 0.167* |
| TC16 | 0 | 0.004 NS | 0.003 NS | 0.004 NS | 0.004 NS | 0.004 NS | 0.003 NS |
| | 24 | 0.400* | 0.233* | 0.400* | 1.100* | 1.500* | 0.133* |
| | 48 | 0.500* | 0.534* | 0.867* | 1.067* | 1.734* | 0.140* |
| TC44 | 0 | 0.005 NS | 0.003 NS | 0.003 NS | 0.003 NS | 0.005 NS | 0.003 NS |
| | 24 | 0.207* | 0.234* | 0.400* | 0.567* | 0.700* | 0.134* |
| | 48 | 0.300* | 0.434* | 0.500* | 0.967* | 1.267* | 0.167* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3. ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสม

จากผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งตามหลักการทางสถิติเมื่อเพาะเลี้ยง KS11, TC16 และ TC44 โดยบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็วแตกต่างกัน พบว่า ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่เวลา 0 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของทุกความเร็วมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมงของทุกความเร็วมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ของทั้ง 3 ไอโซเลทมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที และน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลทมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง (ตาราง 15 และ 16)

ตาราง 16 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส เจริญในอาหารที่บ่มบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | ระยะเวลา (ชั่วโมง) | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 150 รอบ/นาที | 200 รอบ/นาที | 250 รอบ/นาที |
| KS11 | 0 | 0.003 $^{NS}$ | 0.004 $^{NS}$ | 0.003 $^{NS}$ |
| | 24 | 0.934* | 0.734* | 0.433* |
| | 48 | 3.033* | 1.867* | 0.934* |
| TC16 | 0 | 0.004 $^{NS}$ | 0.004 $^{NS}$ | 0.003 $^{NS}$ |
| | 24 | 2.467* | 1.500* | 0.800* |
| | 48 | 3.134* | 1.734* | 0.967* |
| TC44 | 0 | 0.004 $^{NS}$ | 0.005 $^{NS}$ | 0.003 $^{NS}$ |
| | 24 | 1.000* | 0.700* | 0.667* |
| | 48 | 1.634* | 0.967* | 0.800* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

4. ระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวเซลล์

จากผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งตามหลักการทางสถิติเมื่อเพาะเลี้ยง KS11, TC16 และ TC44 และเก็บเกี่ยวเซลล์ที่ระยะเวลาแตกต่าง พบว่า ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ที่เวลา 0 ชั่วโมงของทั้ง 3 ไอโซเลทไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ระยะเวลาอื่นๆ มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า ที่เวลา 0 ชั่วโมงของทั้ง 3 ไอโซเลท ที่เวลา 36, 42 และ 54 ชั่วโมงของไอโซเลท KS11 และที่เวลา 24, 48 และ 54 ชั่วโมงของไอโซเลท TC44 ไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ทุกไอโซเลทมีค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงสุดเมื่อวิเคราะห์ที่เวลา 48 ชั่วโมง แต่ไอโซเลท KS11 และ TC16 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เวลา 48 ชั่วโมง และ TC44 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง (ตาราง 17 และ 18)

ตาราง 17 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ระยะเวลาในการเก็บเซลล์แตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 ชม | 24 ชม | 36 ชม | 42 ชม | 48 ชม | 54 ชม |
| KS11 | 12.44$^{NS}$ | 22.91* | 24.78* | 35.97* | 52.62* | 27.55* |
| TC16 | 10.87$^{NS}$ | 20.12* | 26.39* | 37.66* | 46.96* | 31.19* |
| TC44 | 11.80$^{NS}$ | 17.04* | 21.63* | 34.25* | 44.92* | 29.63* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 18 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่ระยะเวลาในการเก็บเซลล์แตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 ชม | 24 ชม | 36 ชม | 42 ชม | 48 ชม | 54 ชม |
| KS11 | 0.004$^{a}$ | 0.734* | 1.333$^{b}$ | 1.334$^{b}$ | 1.867* | 1.366$^{b}$ |
| TC16 | 0.004$^{a}$ | 0.630* | 0.843* | 1.100* | 1.734* | 1.420* |
| TC44 | 0.005$^{a}$ | 0.700$^{c}$ | 1.366* | 0.967* | 0.763$^{c}$ | 0.690$^{c}$ |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ One-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และตัวเลขที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อน โดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**5. ชนิดและความเข้มข้นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม**

ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 3 ไอโซเลท โดยเพาะเลี้ยงที่สภาวะเหมาะสมในอาหารที่มีน้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันปาล์มเป็นแหล่งคาร์บอน ผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์และน้ำหนักเซลล์แห้งตามหลักการทางสถิติ พบว่า ทุกความเข้มข้นของทุกแหล่งคาร์บอนทั้ง 3 ชนิดมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าน้ำมันมะกอกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนดีที่สุดของไอโซเลท KS11 และ TC44 และน้ำมันถั่วเหลือง 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนดีที่สุดของไอโซเลท TC16 (ตาราง 19 และ 20)

ตาราง 19 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่เพาะเลี้ยงในชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | แหล่งคาร์บอน | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.5% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | 3% | 3.5% | 4% |
| KS11 | Olive oil | 46.58* | 68.33* | 53.31* | 49.33* | 47.67* | 43.80* | 39.83* | 36.54* |
| | Palm | 40.07* | 39.07* | 36.52* | 32.06* | 30.57* | 27.58* | 29.16* | 26.98* |
| | Soybean | 42.98* | 50.61* | 55.47* | 46.57* | 45.09* | 40.11* | 37.67* | 36.38* |
| TC16 | Olive oil | 38.43* | 41.82* | 45.32* | 57.48* | 55.07* | 55.05* | 46.83* | 35.45* |
| | Palm | 38.92* | 36.98* | 38.46* | 37.84* | 32.02* | 21.72* | 29.51* | 17.21* |
| | Soybean | 55.05* | 58.15* | 47.06* | 45.55* | 38.85* | 27.74* | 28.06* | 19.95* |
| TC44 | Olive oil | 45.60* | 53.51* | 47.15* | 43.67* | 40.50* | 33.75* | 31.64* | 27.73* |
| | Palm | 39.50* | 39.46* | 37.22* | 33.25* | 34.36* | 27.46* | 25.00* | 20.15* |
| | Soybean | 41.34* | 50.94* | 47.87* | 44.65* | 39.14* | 35.33* | 34.02* | 26.78* |

**หมายเหตุ:** ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 20 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่เพาะเลี้ยงในชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | แหล่งคาร์บอน | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.5% | 1% | 1.5% | 2% | 2.5% | 3% | 3.5% | 4% |
| KS11 | Olive oil | 1.27* | 1.57* | 1.43* | 1.40* | 1.37* | 1.27* | 0.75* | 0.50* |
| | Palm | 0.43* | 0.40* | 0.37* | 0.33* | 0.28* | 0.20* | 0.17* | 0.20* |
| | Soybean | 0.90* | 0.99* | 0.87* | 0.73* | 0.60* | 0.43* | 0.23* | 0.16* |
| TC16 | Olive oil | 0.90* | 1.07* | 0.90* | 0.70* | 0.63* | 0.37* | 0.40* | 0.33* |
| | Palm | 0.64* | 0.50* | 0.50* | 0.42* | 0.35* | 0.30* | 0.31* | 0.25* |
| | Soybean | 1.70* | 1.97* | 1.77* | 1.60* | 0.90* | 0.73* | 0.43* | 0.47* |
| TC44 | Olive oil | 1.37* | 1.90* | 1.84* | 1.67* | 1.23* | 1.00* | 0.85* | 0.49* |
| | Palm | 0.97* | 0.67* | 0.50* | 0.45* | 0.33* | 0.27* | 0.24* | 0.20* |
| | Soybean | 0.90* | 1.00* | 0.83* | 0.70* | 0.67* | 0.63* | 0.43* | 0.41* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ ข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not Significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อนโดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

6. ชนิดและความเข้มข้นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม

ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 3 ไอโซเลท โดยเพาะเลี้ยงที่สภาวะเหมาะสมในอาหารที่มียูเรียเปบโตน ยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ และแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน ผลการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ตามหลักการทางสถิติ พบว่า ทุกความเข้มข้นของทุกแหล่งไนโตรเจนทั้ง 4 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่า แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนดีที่สุดของไอโซเลท KS11 แอมโมเนียมซัลเฟต ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนดีที่สุดของไอโซเลท TC44 และยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ ความเข้มข้น 0.35 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนดีที่สุดของไอโซเลท TC16 เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อใช้ความเข้มข้นและแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน แต่

เมื่อพิจารณาเฉพาะเปปโตนและยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันพบว่าทั้ง 3 ไอโซเลท ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักเซลล์แห้งทุกไอโซเลทมีแนว โน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีเปปโตนและยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ความเข้มข้นสูงเป็นแหล่งไนโตรเจน (ตาราง 21 และ 22)

ตาราง 21 แสดงค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่เพาะเลี้ยงในชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | แหล่งไนโตรเจน | ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ (U/mg protein) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.05% | 0.1% | 0.15% | 0.2% | 0.25% | 0.3% | 0.35% | 0.4% |
| KS11 | $(NH_4)_2SO_4$ | 23.35* | 35.56* | 51.79* | 53.76* | 72.76* | 63.77* | 33.17* | 15.53* |
| | Urea | 40.94* | 54.17* | 52.70* | 55.21* | 51.15* | 36.77* | 33.52* | 25.09* |
| | Peptone | 51.94* | 53.94* | 47.97* | 41.91* | 44.40* | 29.89* | 29.23* | 24.73* |
| | YE | 54.02* | 50.99* | 44.38* | 38.38* | 37.84* | 36.67* | 34.25* | 33.36* |
| TC16 | $(NH_4)_2SO_4$ | 24.53* | 53.85* | 64.76* | 59.76* | 49.86* | 27.98* | 27.40* | 32.82* |
| | Urea | 33.81* | 37.13* | 42.66* | 48.10* | 42.38* | 36.88* | 23.77* | 31.61* |
| | Peptone | 49.52* | 52.46* | 55.19* | 69.12* | 50.98* | 47.15* | 37.27* | 31.01* |
| | YE | 40.80* | 44.03* | 56.58* | 62.86* | 62.75* | 63.79* | 77.43* | 48.56* |
| TC44 | $(NH_4)_2SO_4$ | 40.75* | 47.25* | 45.65* | 70.72* | 51.06* | 47.70* | 32.75* | 18.57* |
| | Urea | 54.74* | 60.91* | 56.95* | 45.39* | 38.08* | 38.39* | 36.80* | 19.27* |
| | Peptone | 68.04* | 51.62* | 53.50* | 48.55* | 44.17* | 33.22* | 23.74* | 11.01* |
| | YE | 47.16* | 53.12* | 56.01* | 58.29* | 64.65* | 49.30* | 49.40* | 36.82* |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ จากข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และ NS (Not significant) ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อน โดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตาราง 22 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่เพาะเลี้ยงในชนิดและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน

| รหัสเชื้อ | แหล่งไนโตรเจน | น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร) | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 0.05% | 0.1% | 0.15% | 0.2% | 0.25% | 0.3% | 0.35% | 0.4% |
| KS11 | $(NH_4)_2SO_4$ | 1.33* | 1.50* | 1.57* | 1.63* | 1.99* | 1.83* | 1.73* | 1.10* |
| | Urea | 0.59* | 0.67* | 0.73* | 0.97* | 0.77* | 0.50* | 0.40* | 0.43* |
| | Peptone | 0.60$^{a}$ | 0.87$^{b}$ | 1.47$^{c}$ | 1.53$^{d}$ | 1.97$^{e}$ | 2.17$^{f}$ | 2.33$^{g}$ | 2.50$^{h}$ |
| | YE | 0.40$^{a}$ | 0.75$^{b}$ | 1.33$^{c}$ | 1.40$^{d}$ | 1.70$^{e}$ | 2.33$^{f}$ | 2.40$^{g}$ | 2.60$^{h}$ |
| TC16 | $(NH_4)_2SO_4$ | 1.03* | 1.10* | 1.23* | 1.28* | 0.83* | 0.80* | 0.67* | 0.61* |
| | Urea | 0.70* | 0.53* | 0.60* | 0.43* | 0.30* | 0.27* | 0.23* | 0.20* |
| | Peptone | 0.53$^{a}$ | 0.70$^{b}$ | 1.43$^{c}$ | 1.47$^{d}$ | 1.70$^{e}$ | 2.13$^{f}$ | 2.37$^{g}$ | 2.45$^{h}$ |
| | YE | 0.63$^{a}$ | 0.93$^{b}$ | 1.47$^{c}$ | 1.53$^{d}$ | 1.67$^{e}$ | 1.99$^{f}$ | 2.30$^{g}$ | 2.42$^{h}$ |
| TC44 | $(NH_4)_2SO_4$ | 1.40* | 1.43* | 1.50* | 1.77* | 1.53* | 1.28* | 0.90* | 0.70* |
| | Urea | 0.90* | 0.67* | 0.50* | 0.40* | 0.37* | 0.33* | 0.28* | 0.10* |
| | Peptone | 0.47$^{a}$ | 0.77$^{b}$ | 1.37$^{c}$ | 1.53$^{d}$ | 1.70$^{e}$ | 1.93$^{f}$ | 2.35$^{g}$ | 2.50$^{h}$ |
| | YE | 0.50$^{a}$ | 0.97$^{b}$ | 1.43$^{c}$ | 1.60$^{d}$ | 1.83$^{e}$ | 1.97$^{f}$ | 2.43$^{g}$ | 2.70$^{h}$ |

หมายเหตุ: ทำการวิเคราะห์ทางสถิติ Two-way ANOVA แสดงนัยสำคัญ (Significant) ที่ $P \leq 0.05$ จากข้อมูลในตารางตัวเลขที่มี * กำกับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และตัวเลขที่มีตัวอักษรเหมือนกันกำกับไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบเชิงซ้อน โดยวิธี Duncan's test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

1. **ลำดับนิวเคลีโอไทด์ (5' -> 3') ของไอโซเลท KS11**

5'-GGTAGATGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGC
GCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAAC
ATGTCCTGTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATACCGCATACGATCCA
CGGATGAAAGCGGGGGACCTTCGGGCCTCGCGCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGAT
TAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAG
GACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCA
GTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATTCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAA
GAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGGAAAGAAATCCTTGGCTCTAATACA
GTCGGGGGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCC
GCGGTaATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCA
GGCGGTTTGCTAAGACCGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGGT
GACTGGCAGGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAAT
GCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGCCAATACTGA
CGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGC
CCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGGATTCATTTCCTTAGTAACGTAGCTAACGCGT
GAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGG
GACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTAC
CTACCCTTGACATGGTCGGAATCCTGCTGAGAGGTGGGAGTGCTCGAAAGAGAACCG
GCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTC
CCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAAGGAGACT
GCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATG
GGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGG
GGGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGC
ATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCG
GGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTTTACCAGAAGTGGCTAGT
CTAACCGCAAGGAGGACGGTCACCACGGTAGGATTCATGACTGGGGTGAA-3'

2. ลำดับนิวเคลีโอไทด์ (5' -> 3') ของไอโซเลท TC16

5'-TGCAAGTCGAACGGCAGCACGGGTGCTTGCACCTGGTGGCGAGTGG
CGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCCTGTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAA
GCCGGATTAATACCGCATACGATCTACGGATGAAAGCGGGGGACCTTCGGGCCTCGC
GCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGG
CGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGACCAGCCACACTGGGACTGAGACACGG
CCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTG
ATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCCTTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGG
AAAGAAATCCTTGGCTCTAATACAGTCGGGGGATGACGGTACCGGAAGAATAAGCAC
CGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAA
TTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTTGCTAAGACCGATGTGAAATCCCCGGG
CTCAACCTGGGAACTGCATTGGTGACTGGCAGGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTA
GAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAGATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAG
GCAGCCCCCTGGGCCAATACTGACGCTCATGCACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACGATGTCAACTAGTTGTTGGGGATTCATT
TCCTTAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGA
TTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATT
CGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTTGACATGGTCGGAATCCTGCTGAGAGGT
GGGAGTGCTCGAAAGAGAACCGGCGCACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGT
GTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCTAC
GCAAGAGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACG
TCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGGCTTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAG
AGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTAATCCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATT
GCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGCTGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATG
CCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACATCCATGGGAGTG
GGTTTTACCAGAAGTGGCTAGTCTAACCGCAAGGAGGACGGTCACCACGGTAGGATT
CATGACTGGGGTGAAGCGAAAACCA-3'

3. **ลำดับนิวเคลีโอไทด์ (5' -> 3') ของไอโซเลท** TC44

5'-TGAACGCTGGCGGCATGCCTTACACATGCAAGTCGAACGGCAGCACG
GGTGCTTGCACCTGGTGGCGAGTGGCGAACGGGTGAGTAATACATCGGAACATGTCC
TGTAGTGGGGGATAGCCCGGCGAAAGCCGGATTAATACCGCATACGATCTACGGATG
AAAGCGGGGGACCTTCGGGCCTCGCGCTATAGGGTTGGCCGATGGCTGATTAGCTAG
TTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCAGTAGCTGGTCTGAGAGGACGAC
CAGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGG
AATTTTGGACAATGGGCGAAAGCCTGATCCAGCAATGCCGCGTGTGTGAAGAAGGCC
TTCGGGTTGTAAAGCACTTTTGTCCGGAAAGAAATCCTTGGCTCTAATACAGTCGGGG
GATGACGGTACCGGAAGAATAAGCACCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGGTGCGAGCGTTAATCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGTGCGCAGGCGGTTT
GCTAAGACCGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTGCATTGGTGACTGGCA
GGCTAGAGTATGGCAGAGGGGGGTAGAATTCCACGTGTAGCAGTGAAATGCGTAGAG
ATGTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCCCCTGGGCCAATACTGACGCTCATG
CACGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCCTAAACG
ATGTCAACTAGTTGTTGGGGATTCATTTCCTTAGTAACGTAGCTAACGCGTGAAGTTGA
CCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGC
ACAAGCGGTGGATGATGTGGATTAATTCGATGCAACGCGAAAAACCTTACCTACCCTT
GACATGGTCGGAATCCTGCTGAGAGGCGGGAGTGCTCGAAAGAGAACCGGCGCACA
GGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTGTCCTTAGTTGCTACGCAAGAGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTG
ACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTATGGGTAGGG
CTTCACACGTCATACAATGGTCGGAACAGAGGGTTGCCAACCCGCGAGGGGGAGCTA
ATCCCAGAAAACCGATCGTAGTCCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGCTG
GAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTAC
ACACCGCCCGTCACACCATGGGAGTGGGTTTTACCAGAAGTGGCTAGTCTAACCGCA
AGGAGGACGGTCACCACGGTAGGATTCATGACTGGGGTGAA-3'