

สภากาชาดที่เน晦จะสมสำหรับการเติบโตของแบนค์ที่เรียกชื่อว่า เค็นท์พลิติป์ปรติเอนส์



นางสาวศิริเพ็ญ เวชชการัณย์

วิทยานิพนธ์นี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชาจุลทรีวิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2533

ISBN 974-577-244-5

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

016544

i 10306596

Optimal Conditions for Growth of Protease-Producing
Halophilic Bacteria

Miss Siripen Vethchagarun

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science
Department of Microbiology
Graduate School
Chulalongkorn University
1990

ISBN 974-577-244-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์ สภาระที่เห็นชอบสมสำหรับการเติบโตของแบบที่เรียบง่ายเป็นที่ผลิตโดยประเทศ

โดย นางสาวศิรินันท์ เวชชกรัตน์

ภาควิชา ชุลศึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตสิน สีหมากนัน

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ชนีอวัน

รองศาสตราจารย์ ดร. กานุจนา ชาญส่งเจ้าเวช

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....
(ศาสตราจารย์ ดร. ภาวนा วัชราภิญ)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....
(รองศาสตราจารย์ วีระภาณุ มหานนท์)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตสิน สีหมากนัน)

.....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ชนีอวัน)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. กานุจนา ชาญส่งเจ้าเวช)

.....
(รองศาสตราจารย์ กานุจนา จันทองจัน)

พิมพ์ด้วยน้ำหมึกด้วยวิธีการนิยมทั่วไปในการอ่านสีเขียวนี้เพื่อแสดงเดียว

ศิริเพ็ญ เวชชาการณ์ : สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเติบโตของแบคทีเรียชลนเค็มที่ผลิต
โปรตีอีส (OPTIMAL CONDITIONS FOR GROWTH OF PROTEASE-PRODUCING
HALOPHILIC BACTERIA) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร.ประกิจศิลป์ สีหันนท์ อ.ที่ปรึกษาร่วม :
ผศ.ดร.สุเทพ ถนียวน์, รศ.ดร.ภาณุจนา ชาญส่งเวช, 120 หน้า.
ISBN 974-577-244-5



ในการลดระยะเวลาที่แบคทีเรียชลนเค็มที่ผลิตโปรตีอีสที่มีเอกตัวที่สูงลงในดังนี้ ได้แก่แบคทีเรียชลนเค็มสูง 13 ไอโซเลท จากดังนี้ป่าหลังการหมัก 2 เดือน เป็นเชื้อที่ผลิตตั้งแต่เดือนที่ 1 ใช้เชิงเส้นและเจลลาทินบนอาหารร้อนมีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นใช้เดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 5 ไอโซเลท มีเพียง 1 ไอโซเลท คือแบคทีเรียชลนเค็มหมายเลข 8 ที่ผลิตตั้งแต่เดือนที่ 1 ใช้เชิงเส้นในอาหารเรียงเชือกเหลว แบคทีเรียนี้จริงได้ดีและผลิตโปรตีอีสในรูปเชิงเส้นที่มีเอกตัวที่สูงในอาหารเรียงเชือกมีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นใช้เดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ ผลการแปรปั้นด้วยความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและในโตรเจนพบว่า แบคทีเรียชลนเค็มหมายเลข 8 ต้องการแหล่งในโตรเจนอื่นเพิ่มเติมจากเจลลาทิน เช่น กรดแคสโซมิโน, ผงสักดจากยีสต์ หรือแอมโมเนียมคลอไรด์ เมื่อเติมแหล่งในโตรเจนเหล่านี้ลงในมีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าแอมโมเนียมโมเนียมคลอไรด์ทำให้การเจริญลุกลง แต่โปรตีอีสเอกตัวที่ใกล้เคียงกับเมื่อเติมกรดแคสโซมิโน หรือผงสักดจากยีสต์ ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ผลการทดลองนี้แสดงว่าแอมโมเนียมคลอไรด์เพิ่มเอกตัวที่ของโปรตีอีส หลังจากแปรปั้นด้วยความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนและในโตรเจน, เกลือแร่, ความเป็นกรดค้างเริมต้นและอุณหภูมิพบว่า อาหารเรียงเชือกที่เหมาะสมที่จะทำให้แบคทีเรียชลนเค็มหมายเลข 8 เจริญได้ใกล้เคียงและผลิตโปรตีอีสได้สูงอย่างมั่นคงยั่งยืนเมื่อเทียบกับคอนโทรล (มีเดียม 73) ประกอบด้วย เจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ กรดแคสโซมิโน 0.05 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมคลอไรด์ 0.05 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์และแคลเซียมคลอไรด์ 0.02 เปอร์เซ็นต์ pH 7.0 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กลูโคสทำให้แบคทีเรียเจริญและมีเอกตัวที่น้อยกว่าเจลลาทิน ผลการทดลองพบว่าโปรตีอีสของแบคทีเรียนี้เป็นอัลคาไลด์โปรตีอีส มีเอกตัวที่สูงสุดที่ pH 8.0-9.0 จากการจัดจำแนกแบคทีเรียชลนเค็มหมายเลข 8 นี้พบว่ามีสมบัติใกล้เคียงกับแบคทีเรียในกลุ่ม Halobacterium แบคทีเรียนี้มีรูปร่างเป็นแท่ง โคลโนลีกลม โปร่งแสงและมีสีชมพู ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แสดงให้เห็นถึงผนังเซลล์มีลักษณะหยัก มีเยื่อหุ้มเซลล์ เมมเบรน นิวเคลียลคลาสึมและออร์แกแนลลักซ์จะเป็นแบบทึบอิเล็กตรอน

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิสิต ลีลาวดี ใจดี ใจดี
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ที.ก.ก.ก. ก.ก.ก.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ก.ก.ก. ก.ก.ก.
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ก.ก.ก. ก.ก.ก.



รายงานการศึกษาเชิงทดลอง หัวข้อเรื่องการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในน้ำปลาเพื่อใช้ในการผลิตน้ำปลาหมักดอง

SIRIPEN VETHCHAGARUN : OPTIMAL CONDITIONS FOR GROWTH OF PROTEASE-PRODUCING HALOPHILIC BACTERIA. THESIS ADVISOR ASSO. PROF. PRAKITSIN SIHANONT, Ph.D., ASST. PROF. SUTHEP THANIYAVARN, Ph.D., ASSO. PROF. KANJANA CHANSA-NGAVEJ, Ph.D. 120 PP. ISBN 974-577-244-5

In order to reduce the fermentation time required for the production of fish sauce, halophilic bacteria with high proteolytic activity may be added into the fermentor. Thirteen isolates of halophilic bacteria were isolated from a fermentor after a two-month fish sauce fermentation. Of the five isolates which were found to produce both the gelatinase and caseinase enzymes on an agar medium only one isolate (halophilic bacteria number 8) was found to produce caseinase in liquid culture. This bacterial isolate grew well and exhibited high protease in the form of caseinase activity in liquid culture (medium 73) at 25 per cent sodium chloride concentration. The results of the variations in the types and concentrations of carbon and nitrogen sources revealed that halophilic bacteria number 8 required supplementary nitrogen sources in addition to gelatin. When a supplementary nitrogen source such as cas-amino acids or yeast extract or ammonium chloride was added to medium 73 with 0.5 per cent gelatin, the results showed that the availability of ammonium chloride led to a lower extent of growth but the same extent of proteolytic activity when compared with the same concentrations of the other two organic nitrogen sources. These results suggested that ammonium chloride increased the proteolytic activity. After the variations in the types and concentrations of carbon and nitrogen sources, mineral salts, initial pHs, and experimental temperatures it was found that a suitable medium which yielded comparable growth but significantly higher proteolytic activity for the halophilic bacterial isolate number 8 when compared to the control (medium 73) was 1.0 per cent gelatin, 0.05 per cent cas-amino acids, 0.05 per cent ammonium chloride, 25 per cent sodium chloride, 0.5 per cent potassium chloride and 0.02 per cent calcium chloride, pH 7.0, growth temperature 37°C. Glucose was found to yield less growth and proteolytic activity when compared to gelatin. The protease of this bacterium was found to be an alkaline protease which exhibited maximum activity at pH 8.0-9.0. This halophile was tentatively identified as Halobacterium sp. It was rod-shaped with round, transparent and pink colonies. Electron micrographs showed wavy cell wall with cell membrane, nucleoplasm and a striated electron-dense organelle.

ภาควิชา จุลชีววิทยา
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม
ปีการศึกษา 2532

ลายมือชื่อนิสิต นิรันดร์ ใจธรรมนูญ
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา บริพัตร นันทร์
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาawan กานดา บุญเรือง



กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอทราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ประกิตศิลิน สีหะนกน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ชนேอัน และ รองศาสตราจารย์ ดร. กานุจนา ชาญส่ง่เวช ที่ได้กราบเป็นที่ปรึกษาให้ค่าแนะนำ แนวความคิด ตลอดจนช่วยแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สมบูรณ์

ขอทราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ วีระวุฒิ มหามนตรี และรองศาสตราจารย์ กานุจนา จันทองจัน ที่ได้กรุณารับเป็นกรรมการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ วิรุฬห์ มังคละวิรช และเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือที่ศูนย์เครื่องมือฯ

ขอขอบพระคุณท่านคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมทั้งเพื่อน ๆ และน้อง ๆ ที่ช่วยให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ทุนสำหรับทำการวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวกต่าง ๆ

ท้ายสุดนี้ขอทราบขอบพระคุณ คุณแม่และน้องข้าพเจ้าที่ให้ความช่วยเหลือ ทั้งกำลังกาย กำลังใจ และกำลังทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์ตั้งแต่เริ่มต้นจนเสร็จสมบูรณ์



สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	๑
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	๓
กิจกรรมประจำปี	๗
สารบัญ	๗
สารบัญตาราง	๗
สารบัญรูป	๙
บทที่	
1 บทนำ	1
2 ตรวจสอบสาร	4
3 วิธีดำเนินการวิจัย	12
4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	25
5 สรุป	88
เอกสารอ้างอิง	91
ภาคผนวก ก	100
ภาคผนวก ข	113
ภาคผนวก ค	118
ประวัติผู้เขียน	120

สารบัญตาราง

ตารางที่

หน้า

1	ผลการทดสอบเจลลาทินเนสของแบคทีเรียชوبเคิมที่แยกได้บนอาหารวัุน มีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 20 เปอร์เซ็นต์.....	26
2	ผลการทดสอบเจลลาทินเนสของแบคทีเรียชوبเคิมที่แยกได้บนอาหารวัุน มีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์.....	27
3	ผลการทดสอบเชิงเส้นของแบคทีเรียชوبเคิมที่แยกได้บนอาหารวัุนมีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 20 เปอร์เซ็นต์.....	29
4	ผลการทดสอบเชิงเส้นของแบคทีเรียชوبเคิมที่แยกได้บนอาหารวัุนมีเดียม 73 ที่ความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 25 เปอร์เซ็นต์.....	30
5	สรุปผลการทดสอบเจลลาทินเนสและเชิงเส้นของแบคทีเรียชوبเคิมที่แยกได้ บนอาหารวัุนที่ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์..	31
6	ผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างการย่อยสลายเจลลาทินและเชื้อ.....	33
7	สรุปผลการคัดเลือกแบคทีเรียชوبเคิมที่ผลิตโปรตีโนไซด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหלו..	36
8	สรุปผลการคัดเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อเหโล.....	38
9	สรุปผลการคัดเลือกความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหโล..	40
10	ปริมาณการดูดน้ำในกรดแคลสโซนิโน.....	50
11	ปริมาณการดูดน้ำในผงสักดิจากเยื่อสต์.....	51
12	สรุปผลการคัดเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน.....	63
13	สรุปผลการบรรยายความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลฟ์และโปแทสเซียมคลอไรด์....	73
14	สรุปผลการบรรยายความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์.....	76
15	สรุปผลการบรรยายเป็นกรดต่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	79
16	สรุปผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดต่างในอาหารเลี้ยงเชื้อตลอดการเลี้ยง.	80
17	สรุปผลการบรรยายในการเลี้ยงเชื้อ.....	82
18	ผลการบรรยายเป็นกรดต่างใน assay medium.....	83
19	คุณสมบัติทางชีวเคมีทางประการของ <u>Halobacterium salinarium</u> และแบคทีเรียชوبเคิมสูงหมายเลขอ.....	86

สารบัญ

รูปที่

หน้า

1 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็ม 5 ไอโซเลต ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73.....	35
2 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็ม 5 ไอโซเลต ในอาหาร เลี้ยงเชื้อมน้ำเดือน 73.....	35
3 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เหลว 5 ชนิด.....	37
4 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยง เชื้อเหลว 5 ชนิด.....	37
5 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่ปรัชวน เชื้อมน้ำของโซเดียมคลอไรด์.....	39
6 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยง เชื้อมน้ำเดือน 73 ที่แบรควาน เชื้อมน้ำของโซเดียมคลอไรด์.....	39
7 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่ไม่มีพังสักจากยีสต์และแบรควาน เชื้อมน้ำของโซเดียมคลอไรด์..	41
8 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่ไม่มีพังสักจากยีสต์และแบรควาน เชื้อมน้ำของเจลลาทิน.....	41
9 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่มีเจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และแบรชนิดของแหล่งในต่อเจน.	43
10 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่มีเจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และแบรชนิดของแหล่งในต่อเจน.	43
11 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมน้ำเดือน 73 ที่มีเจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และแบรควาน เชื้อมน้ำของพงสักจากยีสต์.....	45
12 ปฏิเสธแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ น้ำเดือน 73 ที่มีเจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และแบรควาน เชื้อมน้ำของ พงสักจากยีสต์.....	45
13 การเจริญของแบคทีเรียชอบเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมน้ำเดือน 73 ที่มีเจลลาทิน 1.0 เปอร์เซ็นต์ และแบรควาน เชื้อมน้ำของแอกโนเนียมคลอไรด์.	46

รูปที่	หน้า
26 ประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ และแปรความเข้มข้นของพงสกัดจากเยื่อสต์.....	58
27 การเจริญของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ และแปรความเข้มข้นของการแคลสโซนมิโน.....	59
28 ประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ และแปรความเข้มข้นของกรดแคลสโซนมิโน.....	59
29 การเจริญและประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ พงสกัดจากเยื่อสต์ 0.2 เปอร์เซ็นต์ และแปรความเข้มข้นของแอมโนเนียมคลอไรด์.....	60
30 การเจริญและประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีเดียม 73 ที่มีเจลลาทิน 0.25 เปอร์เซ็นต์ กรดแคลสโซนมิโน 0.2 เปอร์เซ็นต์ และแปรความเข้มข้นของแอมโนเนียมคลอไรด์.....	61
31 การเจริญของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีเดียม 73 ที่มีกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์แทนเจลลาทิน และแปรชนิดของแหล่งไนโตรเจน.....	62
32 ประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีเดียม 73 ที่มีกลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์แทนเจลลาทิน และแปรชนิดของแหล่งไนโตรเจน.....	62
33 การเจริญของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 เมื่อแปรความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลฟ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยไม่เติมโปแทสเซียมคลอไรด์.....	68
34 ประดิสแซคติวิตี้ของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 เมื่อปรับความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลฟ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยไม่เติมโปแทสเซียมคลอไรด์.....	68
35 การเจริญของแบคทีเรียชบดเค็มหมายเลข 8 เมื่อปรับความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลฟ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโปแทสเซียมคลอไรด์ 0.25 เปอร์เซ็นต์.....	69

รูปที่	หน้า
36 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับ ความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลไฟต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือก แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.25 เปอร์เซ็นต์.....	69
37 การเจริญของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับความเข้มข้นของ แมกนีเซียมชัลไฟต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและ ไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์.....	71
38 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับ ความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลไฟต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือก แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์.....	71
39 การเจริญของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับความเข้มข้นของ แมกนีเซียมชัลไฟต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและ ไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.75 เปอร์เซ็นต์.....	72
40 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับ ความเข้มข้นของแมกนีเซียมชัลไฟต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือก แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว โดยเติมโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.75 เปอร์เซ็นต์.....	72
41 การเจริญของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับความเข้มข้นของ แคลเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกแหล่งคาร์บอนและ ไนโตรเจนแล้ว.....	75
42 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับ ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่คัดเลือก แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว.....	75
43 การเจริญของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับความเป็นกรดด่างเริ่มต้น ในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	77
44 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับความเป็น กรดด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	77
45 การเจริญของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ.	81
46 ประเมินค่าตัวแปรที่ของแบบที่เรียบคุณภาพเบอร์ 8 เมื่อปรับ อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อ.....	81

รูปที่	หน้า
47 โครงสร้างภาษา nokของแบบที่เรียกชื่อเป็นเดิมหมายเลข 8 ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ อิเล็คตรอนแบบสแกนนิ่ง.....	84
48 โครงสร้างภาษาในของแบบที่เรียกชื่อเป็นเดิมหมายเลข 8 ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ อิเล็คตรอนแบบกรานสมิชชัน.....	85