

เอกสารอ้างอิง

- Aiyappa, P.S., Traficante, L.J., and Lampen, O.J., "Penicillinase-Releasing Protease of *Bacillus licheniformis* : Purification and General Properties," J. Bacteriol., 129, 191-197, 1977.
- Aunstrup, K., "Proteolytic Enzymes," Appl. Biochem. and Bioeng., 2, pp.49-53, 1979.
- Bernlohr, W.R., "Postlogarithmic phase Metabolism of Sporulating Microorganism. I. Protease of *Bacillus licheniformis*," J. Biol. Chem., 239, 2, 538-543, 1964.
- Carole, A.R., Alice, T.B., and Abdul, M., "Role of Protein Degradation in the Survival of Carbon-Starved *Escherichia coli* and *Solmonella typhimurium*," J. Bactriol., 157, 3, 758-763, 1984.
- Chaloupka, J., Kreckova, P., "Regulation of the Formation of Protease in *Bacillus megaterium* I. The Influence of Amino Acids on the Enzyme Formation," Folia Microbiol., 11, 82-88, 1966.
- Chain, E.B., and Gualandi, G., Rend. 1 st Super. sanit., (English end), 17, 5, 1954.
- Church, D.C., Pond, W.G., "Applied Animal Nutriton," Basic Animal Nutrition & Feeding, 3rd ed , John Wiley & Sons., 1982.
- Coleman, G., "Studies on The Regulation of Extracellular Enzyme Formation by *Bacillus subtilis*," J. Gen. Microbiol., 49, 421-431, 1967.

- Dancer, B.N. and J. Mandelstam, "Production and Possible Function of Serine Protease During Sporulation of *Bacillus subtilis*," J. Bacteriol., 121, 406-410, 1975.
- David, A.E., and Jame, A.W., "Modified Enzyme and Methods for Making Same," U.S. Patent 4,760,025, Jul. 26, 1988.
- Doi, R.H., "Role of Protease in Sporulation," Current Topics in Cellular Regulation, 7, 1-20, 1973.
- Dominic, W.S. Wong, "Protein," Mechanism and Theory in Food Chemistry, 92, Van Nostrand Reinhold AVI Book, 1989.
- Don, R.D., David, B.S., and Stellwag, E.J., "Novel Alkaline- and Heat-Stable Serine Protease from Alkalophilic *Bacillus* sp. Strian GX6638," J. Bacteriol., 169, 6, 2762-2768, 1987.
- Gennadios, A. and Weller, C., "Edible Film and Coating from Wheat and Corn Protein," Food Technol., 44, 10, 63, 1990.
- Griffin, P.J., and Fogarty, W.M., "Production and Purification of the Metalloprotease of *Bacillus polymyxa*," Appl. Microbiol., 26, 185-190, 1973.
- Guido, M.M., Haute, T., "Process for the Production of Alkaline Proteinase," U.S. Patent 3,696,000, Oct. 3, 1972.
- Hartley, B.S., "Proteolytic enzymes," Annu. Rev. Biochem., 29, 45-72, 1960.
- Heineken, F.G., O'Conner, R.J., "Continuous Culture Studies on the Biosynthesis of Alkaline Protease, Neutral Protease and α -Amylase by *Bacillus subtilis* NRRL-B3411," J. Gen. Micro., 73, 35-44, 1972.

- Helle, O., and Boyce, C.O., "Microbial Proteinase and Biotechnology," Microbial Enzymes and Biotechnology, 2nd edition ed. by Forgarty W.M. & Kelly C.T., 240-241, Elsevier Applied Science, New York, U.S.A., 1990.
- Hepner, L., and Male, C., Report: Industrial enzyme by 1990., L. Hepner and Assoc., London, 1986.
- Hidato, T., Teruhiko, A., and Koki, H., "Characterization of and Alkaline Protease from *Bacillus* sp. no. AH-101," Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 519-523, 1990.
- Hiroshi, T., Takako, T., Haruo, M., Masayori, I., Yoshimi, M., Hiroshi, M., and Takahisa, O., "Enhancement of the Thermostability of Subtilisin E by Introduction of a disulfide Bond Engineered on the Basis of Structural Comparison with a Thermophilic Serine Protease," J. Biol. Chem., 265, 12, 6874-6878, 1990.
- Horikoshi, K., "Production of Alkaline Enzymes by Alkalophilic Microorganisms Part.I Alkaline Protease Produced by *Bacillus* no.221," Agri. Biol. Chem., 35, 1783-1791, 1971.
- Jaroslav, V., Jamila, P., Milada, D., Libuse, V., Marie, S., Helena, K., Vladimir, V., Rimma, Z., and Jiri, C., "External Factor Involved in the Regulation of Synthesis of an Extracellular Proteinase in *Bacillus megaterium* : Effect of Temperature," Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 352-357, 1991.
- _____., "External Factor Involved in the Regulation of Synthesis of an Extracellular Proteinase in *Bacillus megaterium* : The Effect of Glucose and Amino Acids," Appl. Microbiol. Biotechnol., 26, 373-377, 1987.

- Jens, A.N., "Enzymatic Hydrolysis of Proteins for Increased Stability,"
J. Agric. Food Chem., 24, 6, pp.1090-1094, 1976.
- John, D.H., and David, G.C., "The Response of *Bacillus subtilis*
ATCC 21332 to Manganese During Continuous-Phase Growth,"
Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 72-76, 1991.
- Jolliffe, L.K., Doyle, J., and Streips, U.N., "Extracellular Proteases
Modify Cell Wall Turnover in *Bacillus subtilis*," J. Bacteriol.,
14, 1199-1208, 1980.
- Keay, L. et al, "Production and Isolation of Microbial Protease,"
Biotechnol. Bioeng. Symp., 3, 63-92, 1972.
- Lee, Y.H., and Chang, H.N., "Production of Alkaline Protease by *Bacillus*
licheniformis in an Aqueous Two-Phase System," J. Ferment.
and Bioeng., 69, 2, 89-92, 1990.
- Leonard, W.A., Woods, A.E., Wells, M.R., "Protein Analysis," Food Composi-
tion and Analysis, An AVI Book, published by Van Nostrand
Reinhold, New York, 275-276, 1987.
- Linda, O.N., Yitzhak, S., Michael, L., Linda, M., Raj, S., Steve, F.,
Sung, P., Carl, K., Tsutomu, A., and Mark, Z., "Enhanced
Stability of Subtilisin by Three Point Mutations," Bioltech.
and Appl. Biochem., 13, 12-24, 1991.
- Lowry, H.O., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, J.R., "Protein
Measurement with the Folin Phenol Reagent," J. Biol. Chem.,
193, 265-275, 1951.
- MG Halpern, "Production from *Bacillus subtilis* ATCC 21415 Through
21418," Industrial Enzyme from Microbial Source
(Recent Advances), Chemical Technology Review, no.186,
53-58, NOYES DATA Corporation, New Jersey, U.S.A., 1981.

- Miller, B.M. and Listky, W., "Microbial Enzymes," Industrial Microbiology, Mc Graw-Hill, INC., 1976.
- Millet, J., R. Acher and J.P. Aubert, "Biochemical and Physiological Properties of an Extracellular Protease Produced by *Bacillus megaterium*," Biotech. and Bioeng., 11, 1233-1246, 1969.
- Mizobe, F., Takahashi, K., and Ando, T., J. Biochem., Tokyo, 73, 61, 1973.
- Mosolov, V.V., Sokolova, E.V., and Livenskaya, O.A., "Inhibition of Chymotrypsin and Microbial Serine Proteinase from Corn Seeds," Biochem. Acad. Sci. USSR., 49, 8, pp.1143-1150, 1985.
- Nobuaki, F., Kazuhiko, Y., "Production of Alkaline Protease in a Low-Cost Medium by Alkalophilic *Bacillus* sp. and Properties of the Enzyme," J. Ferment. Technol., 65, 3, 345-348, 1987.
- O'Reilly, and Day, D.F., "Effect of Culture Conditions on Protease Production by *Aeromonas hydrophila*," Appl. and Environ. Microbiol., 45, 3, p.1132-1135, 1983.
- Roger, R.B., and Bernard, O., "Process for the Preparation of Protease Active in Alkaline Medium," U.S. Patent 3,661,715, May 9, 1972.
- Sadanobu, T., Yoshihiro, H., Yoshihiro, N., and Koji, M., "Microbial Protease and Preparation Thereof," U.S. Patent 3,871,963, Mar. 18, 1975.
- Seung-Hyeon Moon and Satish J. Parulekar, "A Parametric Study of Protease Production in Batch and Fed-Batch Culture of *Bacillus firmus*," Biotech. and Bioeng., 37, pp.467-483, 1991.

- Shul'gin, M.N., and Mosolov, V.V., "Specific Protein Inhibitors of Microbial Proteinase Isolation from cereal seeds," Biochem. Acad. Sci. USSR., 50, 10, pp.1431-1439, 1986.
- Sikyta, B., "Substrate for Microbial Processes," Method in Industrial Microbiology, 160-166, Ellis Horwood Limited Publisher, John Wiley & Sons, 1983.
- Terry, A.K., Raanan, A., Michael S., and Arthur, A.G., "Buffering Capacity of Bacilli That Growth at Different pH Ranges," J. Bacteriol., 162, 2, 768-772, 1985.
- Ulrich, E.G., Gabrile, B., Heinz, R., Uwe, S., and Christian, W., "Production of Alkaline Protease with *Bacillus licheniformis* in a Control Fed-Batch Process," Appl. Microbiol. Biotechnol., 35, 720-724, 1991.
- Ward, O.P., "Proteinases," Microbial Enzymes and Biotechnology, (Forgarty, W.M., ed.), pp.251-317, Applied Science Publishers, London and Newyork, 1983.
- Webb, M., "The Influence of Magnesium on Cell Division, 2. The Effect of Magnesium on the Growth and Cell Division of Various Bacterial Species in Complex Media," J. Gen. Microbiol., 3, 410-417, 1949.
- Yukio, T., Naohiro, K., and Yazuru, S., "Alkaline Serine Protease Produced from Citric Acid by *Bacillus alkalophilus* subsp. *halodurans* KP 1239," Appl. Microbiol. Biotechnol., 34, 57-62, 1990.
- ร.อ. ปกรณ์ จิโรจน์กุลกิจ, "การแยกให้บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของแอลคาไลน์โปรตีเอสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25," วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย , 2532.

วรรณดี แสงดี, "การหมักถั่วเหลืองด้วยเชื้อจุลินทรีย์ผสมเพื่อใช้เป็นอาหารลูกสุกรหย่านมก่อน-
กำหนด," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2529.

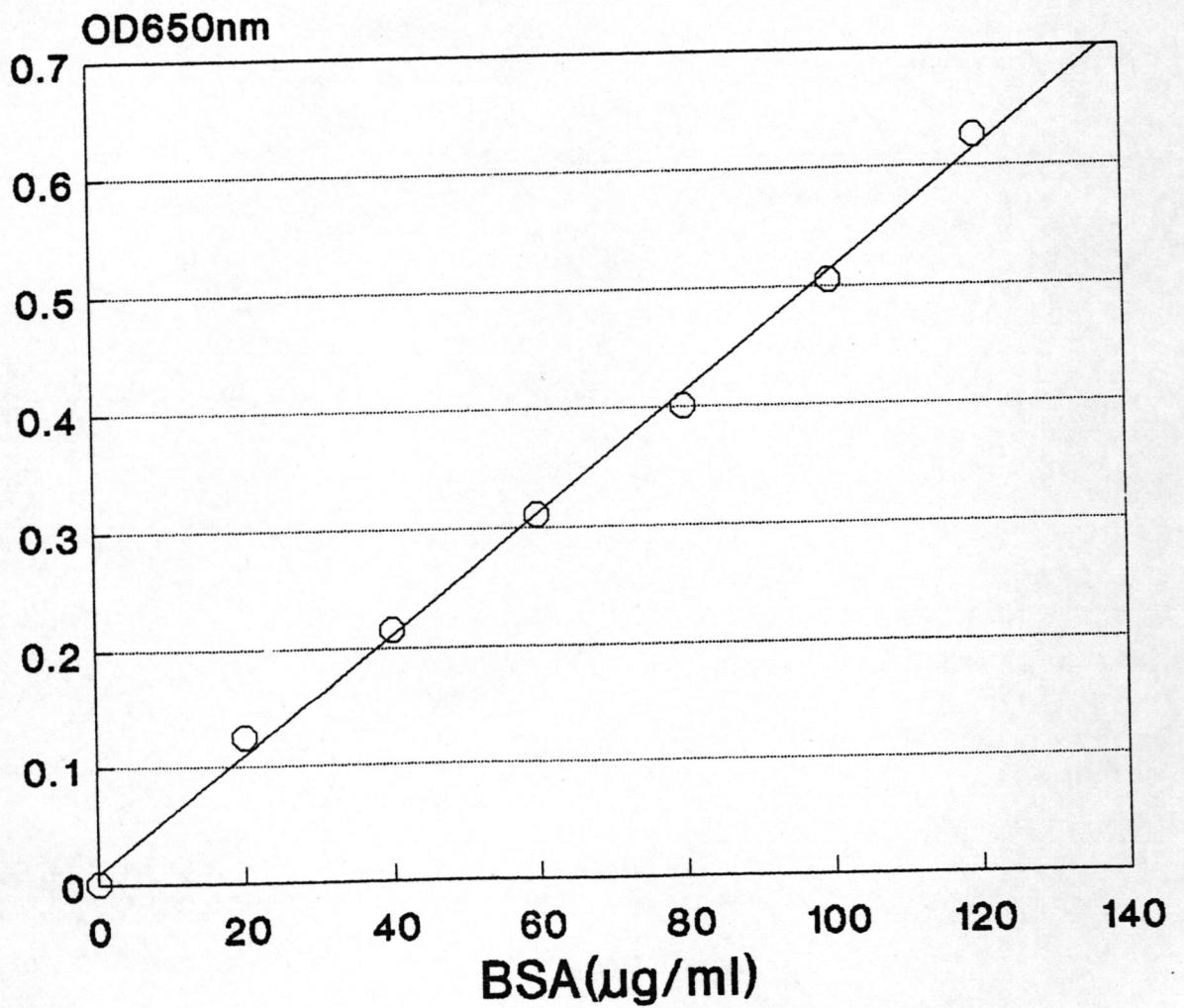
สนธยา ศรีเมฆ, "ผลของสารต้านต่อคาร์บอนและไนโตรเจน ต่อการผลิตโปรตีนเอส และเอนไซม์ใน
ไนโตรเจน เมแทบอลิซึม ของ บาซิลลัส สับติลิส TISTR 25," วิทยานิพนธ์ปริญญา
มหาบัณฑิต ภาควิชาชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533.

สุพจน์ ไร่เทียมวงศ์, "บทบาทการที่จำเป็นต่อการหมัก," เทคโนโลยีการหมัก, ภาควิชาชีววิทยา,
คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2530.

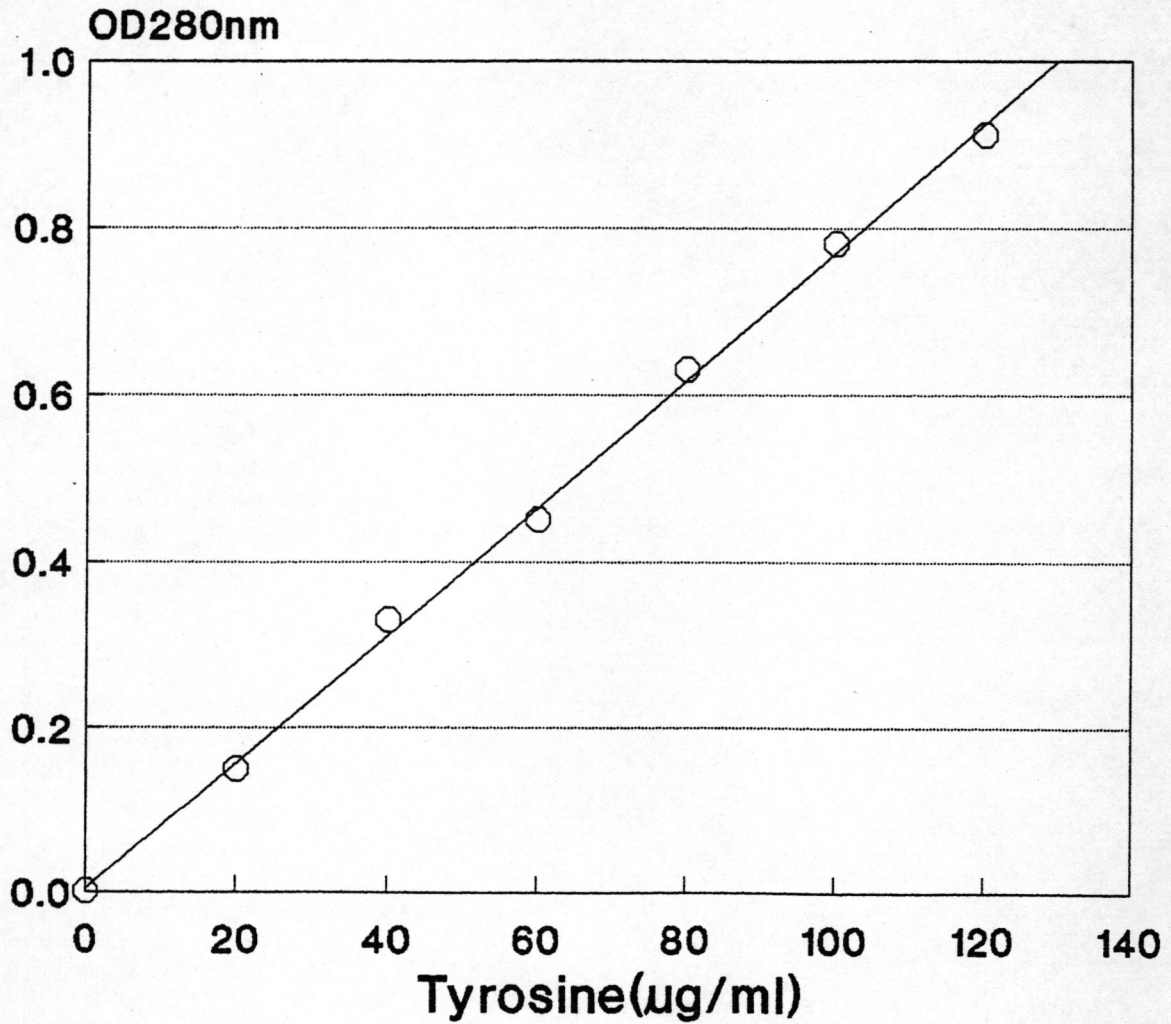
อุดมลักษณ์ ธิติรัญพาณิชย์, "การทำหัตถ์บริสุทธิ์และการศึกษาสมบัติของเอนไซม์นิวทรัลโปรตีนเอส
จาก *Bacillus subtilis* TISTR 25," วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชา
ชีวเคมี บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2534.

ภาคผนวก

ภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน แปรความเข้มข้นของ Bovine serum albumin (BSA) 0-120 ไมโครกรัม (รายละเอียดวิธีการทดลองตามข้อ 3.1.4)



ภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานแสดงการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
กับความเข้มข้นของสารละลายไทโรซีนความเข้มข้น 0-120 ไมโครกรัม



วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา

วัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งในโครงการศึกษาได้แก่ กากถั่วเหลือง กากเมล็ดทานตะวัน กากมะพร้าว wheat gluten corn gluten โดยเปรียบเทียบกับ yeast extract และ cornsteep liquor

1. กากถั่วเหลือง (Church, 1982)

ประกอบด้วยน้ำมัน 15-21 % หลังจากสกัดน้ำมันออกแล้วจะมีโปรตีนเหลืออยู่สูงถึง 44-50 % แต่มีกรดอะมิโนซิสทีน และเมทไอโอนีนอยู่ต่ำ มีสารยับยั้งทริปซินแต่จะสลายเมื่อถูกความร้อนในขบวนการแปรรูปเพื่อนำไปผลิตอาหารสัตว์ การใช้เป็นอาหารสัตว์เรายังสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารได้ เช่น การใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากเชื้อ *Bacillus spp.* ย่อยสลายเพื่อให้ค่าโปรตีนที่ละลายน้ำสูงและใช้เป็นอาหารเลี้ยงลูกสุกรที่หย่านมก่อนกำหนด (วรรณดี, 2529)

2. กากเมล็ดทานตะวัน (Church, 1982)

เริ่มนำมาผลิตน้ำมันครั้งแรกในยุโรปและรัสเซีย ประกอบด้วยโปรตีนและกากในปริมาณสูง มักจะไม่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตอาหารสัตว์แต่เป็นส่วนผสมกับกากวัตถุดิบชนิดอื่นๆ

3. กากมะพร้าว (Church, 1982)

ได้จากการนำเอาเนื้อมะพร้าวที่ตากแห้งแล้วนำไปบีบสกัดน้ำมันออก แต่ยังมีโปรตีนเหลืออยู่ประมาณ 20-26 % ถึงแม้ว่าจะมีปริมาณโปรตีนต่ำ แต่เป็นวัตถุดิบที่มีอยู่มากในหลายพื้นที่ จึงเป็นวัตถุดิบที่น่าสนใจใช้เป็นแหล่งโปรตีนเสริมที่สำคัญแก่วัตถุดิบหลัก

4. wheat gluten

เป็นโปรตีนที่สกัดได้จากข้าวสาลีที่แยกเอาส่วนที่เป็นแป้ง เส้นใย ออกแล้ว ส่วนใหญ่ไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ในตัวที่ละลายหรือกรดและด่าง ประกอบด้วยโปรตีน gliadins และ glutenins เป็นส่วนใหญ่ มีลักษณะเหนียวและเหนืด เมื่อทำแห้งเป็นผงจะมีสีขาวนวล มีค่าโปรตีนสูงถึง 75-80 % คาร์โบไฮเดรต 10-15 % และไขมัน 5-10 %

(Dominic และ Wong, 1989)

5. corn gluten

เป็นโปรตีนข้าวโพดที่ได้จากขบวนการ saccharification ของแป้งข้าวโพด มีชื่อว่า ซีน โปรลามีน ละลายได้ในแอลกอฮอล์ 70 % ประกอบด้วยกรดอะมิโน ลูซีน อะลานีน โพรลีน และกลูตามีนรูปของกลูตามีน มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 65-70 % (Gennadios, 1990)

6. cornsteep liquor

เป็นส่วนที่เหลือจากการการผลิตแป้งข้าวโพดในระหว่างขบวนการแช่ข้าวโพด ซึ่งจะมีสารอาหารต่างๆละลายออกมา ประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด เป็นวัตถุดิบชนิดหนึ่งที่ใช้เป็นแหล่งต้นตอไนโตรเจนในการหมักทางชีวภาพโดยจุลินทรีย์ เช่น ในขบวนการผลิตยาปฏิชีวนะ เพนิซิลิน วัชวัตถุดิบนี้เป็นแหล่งของไนโตรเจน จะสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้สูงถึง 30 % และยังใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอุตสาหกรรมการหมักอีกหลายชนิด จึงนับได้ว่าเป็นวัตถุดิบที่สำคัญชนิดหนึ่ง (Sikyta, 1983)

7. Yeast extract

เป็นส่วนสกัดได้จากเซลล์ยีสต์โดยการย่อยสลายผนังเซลล์ยีสต์ทั้งชนิดที่ใช้ในอุตสาหกรรมขนมอบและอุตสาหกรรมเบียร์นำมาทำแห้งเป็นผง ประกอบด้วยกรดอะมิโน เบตาโทค วิตามินที่ละลายน้ำได้ และ คาร์โบไฮเดรต เป็นสารต้นตอไนโตรเจนอีกชนิดหนึ่งที่ใช้ในขบวนการหมักที่สำคัญ เช่น ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสโดยเชื้อ *B. firmus* (Sikyta, 1983 ; Seung-Hyeon Moon, 1990)

ประวัติผู้เขียน

นาย เกษม พงษ์มณี เกิดวันที่ 30 พฤษภาคม พ.ศ.2509 สำเร็จการศึกษา
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยา) จากคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2530 และเข้าทำงานครั้งแรกที่
บริษัท ซีฟาร์ม จำกัด จังหวัดระยอง ระหว่าง มิถุนายน พ.ศ.2531-พฤษภาคม
พ.ศ.2533

