การแยกแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพจากอาหารหมัก

นางสาวอาภัสรา กอบกัยกิจ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พศ. 2537

ISBN 974-584-286-9

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I17192250

ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA PRODUCING ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM FERMENTED FOOD

Miss Apasara Kobkaiyakit

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

1994
ISBN 974-584-286-9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การแยกแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพจากอาหารหมัก
โดย	นางสาวอาภัสรา กอบกัยกิจ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(ศาสตราจารย์ ดร. ถาวร วัชราภัย)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตรจารย์วีระชวุฒิ มหามนตรี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

..... กรรมการ
(อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พิมพ์ต้นฉบับบทคัดย่อวิทยานิพนธ์ภายในกรอบสีเขียวนี้เพียงแผ่นเดียว

อามัล่รา กอบกัยกิจ : การแยกแลคติคแอลิดแบคทีเรียที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพจากอาหารหมัก (ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA PRODUCING ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM FERMENTED FOOD) อ.ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.คิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์, 145 หน้า. ISBN 974-584-286-9

การแยกแลคติคแอลิดแบคทีเรียจากอาหารหมักไทย ผัก ผลไม้ดอง แหนม และไส้กรอกเปรี้ยว จากตลาดสดต่าง ๆ ได้เชื้อแลคติคแอลิดแบคทีเรีย 50 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถจัดอยู่ในกลุ่มของ *Lactobacillus plantarum* 40 สายพันธุ์, *Lactobacillus animalis* 7 สายพันธุ์, *Lactobacillus pentosus* 1 สายพันธุ์, *Lactobacillus marinus* 1 สายพันธุ์, *Lactobacillus casei subsp. tolerance* 1 สายพันธุ์ ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ *Escherichia coi, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus* พบว่าส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH 3.3 - 4.0 ของแลคติคแอลิดแบคทีเรียทุกสายพันธุ์สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง โดยดูความกว้างของบริเวณยับยั้งและวัดค่าการดูดกลืนแสงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เมื่อทดสอบความสามารถในการสร้างสารต่อต้านจุลชีพพบว่า น้ำเลี้ยงเชื้ออายุ 36 ชม. ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่แยกได้จากหน่อไม้ดอง ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 จะสามารถเกิดบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งต่อเชื้อทดสอบ *B. subtilis* และหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวได้มากที่สุด

การทำสารต่อต้านจุลชีพกึ่งบริสุทธิ์ โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต นำส่วนสกัดไปทำให้บริสุทธิ์โดยการทำโครมาโตกราฟีอย่างต่อเนื่องบนดีอีเออี-เซฟาเดกซ์ เอ-50 และเซฟาเดกซ์ จี-75 ตรวจสอบชนิดและขนาดของสารต่อต้านจุลชีพโดยโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตโฟรีซีส พบว่าน่าจะเป็นสารไลโพโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 33,000 และ 43,000 ดาลตัน

ใช้ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพ เป็นหัวเชื้อเตรียมโยเกิร์ตระดับห้องปฏิบัติการ จากการทดสอบด้วยประสาทสัมผัสระดับการให้คะแนนของสีและเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่เตรียมด้วยเชื้อดังกล่าว จะมีค่าสูงกว่าโยเกิร์ตที่ทำจากโยเกิร์ตที่จำหน่ายในท้องตลาด ค่าการยอมรับรวมของโยเกิร์ตทั้งหมดมีค่าใกล้เคียงกันประมาณ 5.33

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต อามัล่รา กอบกัยกิจ

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา คิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม —

##C326038 : MAJOR INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
KEY WORD: LACTIC ACID BACTERIA / ANTIMICROBIAL
APASARA KOBKAIYAKIT : ISOLATION OF LACTIC ACID BACTERIA PRODUCING ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM FERMENTED FOOD. THESIS ADVISOR : ASSIST. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT Ph.D., 145 pp. ISBN 974-584-286-9

From Thai fermented foods such as fermented vegetable, fruit, Nham and fermented sausage from various grocery markets, fifty strains of Lactic Acid Bacteria were isolated and could be identified as *Lactobacillus piantarum* 40 strains, *Lactobacillus animalis* 7 strains, *Lactobacillus pentosus* 1 strain, *Lactobacillus murinus* 1 strain, *Lactobacillus casei* subsp. *tolerance* 1 strain. It was found that there were good inhibition detected as clear zone on growth of tested microorganisms of *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* by broth cultures pH 3.3 - 4.0 from every isolated LAB strain. Whereas ability for antimicrobial producing was found in broth culture which of pH adjusted to 6.5 and aged 36 hrs. of *Lactobacillus* sp. strain BL, isolated from fermented bamboo shoot. Obviously, these adjusted pH broth cultures can mostly inhibit *B. subtilis* growth in agar and retard their growth in tube test. Antimicrobial substance was partially purified by precipitated with ammonium sulfate and consecutively chromatographed on DEAE-Sephadex A-50 and Sephadex G-75 column, respectively. The antimicrobial activity fraction has been subjected to SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and tentatively showed two bands of lipoprotein molecular weight of 33,000 and 43,000 dalton.

Lactobacillus sp. strain BL, a producing antimicrobial substance strain, was used as a starter culture for yogurt preparation at laboratory scale. From sensory test, score level of colour and texture of yogurt with above strain as a starter culture was higher than those of yogurt prepared with commercial yogurt as a starter culture. Total acceptable values of all prepared yogurts were closed to about 5.33.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาควิชา จุลชีววิทยา ลายมือชื่อนิสิต .....

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....

ปีการศึกษา 2536 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ลงได้ โดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ที่ได้ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และช่วยแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอพระคุณ รองศาสตรจารย์วีระวุฒิ มหามนตรี อาจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการ ในการสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้กำลังใจ คำแนะนำ และข้อคิดเห็นในงานวิจัย ตลอดจนเจ้าหน้าที่ในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกท่าน ที่ได้ให้ความสะดวกต่างๆ

ขอขอบคุณ สำนักงานงบประมาณแผ่นดิน ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนในงานวิจัยนี้ โดยผ่าน ผศ. ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษา

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยที่ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยตลอดจนเจ้าหน้าที่ของบัณฑิตวิทยาลัยที่ได้ช่วยอำนวยความสะดวก

ขอขอบคุณ เพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ที่ได้ให้กำลังใจ และมีส่วนช่วยเหลือในงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอพระคุณ คุณเตี่ย คุณแม่ พี่ชาย พี่สาว น้องชาย ที่ได้ให้กำลังใจ ช่วยเหลือ สนับสนุน ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ
กิตติกรรมประกาศ..... ฉ
สารบัญ..... ช
สารบัญตาราง..... ซ
สารบัญรูป..... ฌ
คำย่อ..... ฝ
บทที่
1. บทนำ..... 1
2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย..... 37
3. ผลการทดลอง..... 51
4. สรุปและอภิปรายผลการทดลอง..... 110
เอกสารอ้างอิง..... 117
ภาคผนวก ก..... 131
ภาคผนวก ข..... 141
ภาคผนวก ค..... 143
ประวัติผู้เขียน..... 145

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1.1 แสดงการจัดกลุ่มของแลคติคแอสิดแบคทีเรีย..... 3

3.1 แสดงชนิดของตัวอย่างอาหารและสถานที่เก็บตัวอย่างของแบคทีเรีย
ที่คัดเลือกได้ 50 สายพันธุ์..... 62

3.2 แสดงผลการทดสอบการใช้คาร์โบไฮเดรทของ *Lactobacillus* sp.
ที่แยกได้จากตัวอย่างอาหารต่างๆ..... 65

3.3 แสดงระยะเวลาในการตกตะกอนก้อนลิ่มในน้ำนมพร่องมันเนยของเชื้อ
แลคติคแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหารหมัก..... 66

3.4 แสดงขนาดความกว้างของบริเวณใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อทดสอบโดย
น้ำส่วนน้ำใสของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่ไม่ได้ปรับความเป็นกรดด่าง..... 67

3.5 แสดงขนาดความกว้างของบริเวณใสที่เกิดจากการยับยั้งเชื้อทดสอบโดย
กรดแลคติค กรดไฮโดรคลอริก และกรดอะซิติค..... 70

3.6 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อใช้ส่วนน้ำใสของเชื้อ ล.อ.บ. ที่ปรับให้มีความเป็นกรดด่าง 6.5..... 71

3.7 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อแปรค่าระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเพื่อสร้างสารต่อต้านจุลชีพ
และปรับส่วนน้ำใสให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5..... 72

3.8 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อแปรค่าระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อเพื่อสร้างสารต่อต้านจุลชีพ..... 73

3.9 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อนำส่วนน้ำใสของเชื้อล.อ.บ. มาทำไดอะไลซิส..... 74

3.10 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อนำส่วนน้ำใสของเชื้อล.อ.บ. มาทำแห้งในภาวะเยือกแข็ง..... 75

สารบัญตาราง (ต่อ)

3.11 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อนำส่วนน้ำใสของเชื้อล.อ.บ. มาตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต.... 76

3.12 แสดงการเปรียบเทียบเวลาการเพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า (t_d) ของ
เชื้อทดสอบเมื่อนำส่วนน้ำใสของเชื้อล.อ.บ. ผ่าน Ion Exchange
Chromatography (DEAE-Sephadex A-50)..... 77

3.13 แสดงคะแนนการทดสอบด้วยประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตทดสอบ..... 78

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

1.1 แสดงการใช้น้ำตาลของพวก Homofermentative Lactic Acid Bacteria.....7

1.2 แสดงการใช้น้ำตาลของพวก Heterofermentative Lactic Acid Bacteria....8

1.3 แสดงสารเคมีที่สามารถพบในขบวนการหมักน้ำตาลที่มีทั้ง Homofermentative และ Heterofermentative Lactic Acid Bacteria.....9

1.4 แสดงโครงสร้างของไนซิน.....19

3.1 แสดงภาพการย้อมสีแกรมของเชื้อ ก. M68 ข. BL ค. 39 ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า.....79

3.2 แสดงภาพการย้อมสีแกรมของเชื้อ ก. 70 ข. A1 ค. B60 ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า.....80

3.3 แสดงภาพการย้อมสีแกรมของเชื้อ ก. AI ข. BA ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า.....81

3.4 แสดงการเปรียบเทียบความกว้างของบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนท์ที่มีบรอมครีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ ที่เกิดจากการยับยั้งด้วยส่วนน้ำใสที่ไม่ได้ปรับความเป็นกรดด่างของเชื้อ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL, 66, AK1, AE ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus....82

3.5 แสดงการเปรียบเทียบความกว้างของบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนท์ที่มีบรอมครีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ ที่เกิดจากการยับยั้งด้วยกรดแลคติคความเข้มข้น 300, 200, 100, 50 mM ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis* และ S. aureus.....83

3.6 แสดงการเปรียบเทียบความกว้างของบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนท์ที่มีบรอมครีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ ที่เกิดจากการยับยั้งด้วยกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 300, 200, 100, 50 mM ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....84

สารบัญรูป (ต่อ)

3.7 แสดงการเปรียบเทียบความกว้างของบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนท์ที่มีบรอมครีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ ที่เกิดจากการยับยั้งด้วยกรดอะซิติคความเข้มข้น 300, 200, 100, 50 mM ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis* *S. aureus*.....85

3.8 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ 33*, AE, AI BA เมื่อใช้ *E. coli* เป็นเชื้อทดสอบ.....86

3.9 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ M68, AK, AJ AJ, A3M, S1 pH 6.5 เมื่อใช้ *E. coli* เป็นเชื้อทดสอบ บ่มที่ 37 °ซ.....87

3.10 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ AE , BA, 33* AJ เมื่อใช้ *B. subtilis* เป็นเชื้อทดสอบ บ่มที่ 37 °ซ.....88

3.11 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ AK, BL, AI, S1, A3M, M68 เมื่อใช้ *B. subtilis* เป็นเชื้อทดสอบ บ่มที่ 37 °ซ.....89

3.12 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ AE, 33*, AI, S1 เมื่อใช้ S. aureus เป็นเชื้อทดสอบ บ่มที่ 37 °ซ.....90

3.13 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ pH ต่างๆของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BA, A3M, AJ, AK, M68, BL เมื่อใช้ S. aureus เป็นเชื้อทดสอบ บ่มที่ 37 °ซ.....91

สารบัญรูป (ต่อ)

3.14 แสดงการเปรียบเทียบความกว้างของบริเวณใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งนิวเตรียนท์ที่มีบรอมครีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ ที่เกิดจากการยับยั้งด้วยส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของเชื้อ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL, AE, BA, M68 ต่อเชื้อทดสอบ *B. subtilis*.....92

3.15 แสดงการติดตามการเจริญของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวแลคโตบาซิไล เอ็มอาร์เอส ที่ 37 °ซ.....93

3.16 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่เลี้ยงนาน 12, 24, 36 ชม. ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....94

3.17 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ AE ที่เลี้ยงนาน 12, 24, 36 ชม. ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....95

3.18 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใส ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่เลี้ยงนาน 12, 24, 36 ชม. ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....96

3.19 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใส ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ AE ที่เลี้ยงนาน 12, 24, 36 ชม. ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....97

3.20 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่ผ่านขบวนการทำไดอะไลซิสของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL, BA, AE, M68, 1.1 ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....98

สารบัญรูป (ต่อ)

3.21 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่ไม่ผ่านขบวนการทำไดอะไลซิส ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL, BA, AE, M68, 1.1 ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....99

3.22 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ที่ผ่านการทำแห้งในภาวะเยือกแข็งของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL, BA, AE, M68 ต่อเชื้อทดสอบ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus.....100

3.23 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 40,70, 90 % เมื่อใช้เชื้อทดสอบ *E. coli*.....101

3.24 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 40,70, 90 % เมื่อใช้เชื้อทดสอบ *B. subtilis*.....102

3.25 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 40,70, 90 % เมื่อใช้เชื้อทดสอบ S. aureus.....103

3.26 แสดงการทำโครมาโตกราฟีของสารต่อต้านจุลชีพที่ผลิตโดย *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL โดยใช้คอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเดกซ์ เอ-50.....104

สารบัญรูป (ต่อ)

3.27 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ผ่านออกจากคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเดกซ์ เอ-50 เมื่อใช้ *E. coli*, *B. subtilis*, S. aureus เป็นเชื้อทดสอบ.....105

3.28 แสดงการทำโครมาโตกราฟีของสารต่อต้านจุลชีนที่ผลิตโดย *Lactobacillus sp.* สายพันธุ์ BL โดยใช้คอลัมน์เซฟาเดกซ์ จี-75.....106

3.29 แสดงการหน่วงเหนี่ยวการเจริญของเชื้อทดสอบแบบ Tube Test ในช่วงเวลาต่างๆ ของส่วนน้ำใสที่ปรับให้มีค่าความเป็นกรดด่าง 6.5 ของ *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ที่ผ่านออกจากคอลัมน์เซฟาเดกซ์ จี-75 เมื่อใช้ *B. subtilis* เป็นเชื้อทดสอบ.....107

3.30 โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟริสิซของสารต่อต้านจุลชีพที่ผลิตจาก *Lactobacillus* sp. สายพันธุ์ BL ในขั้นตอนต่างๆของการทำให้บริสุทธิ์.....108

3.31 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาตรฐาน และลอกการิธึมของน้ำหนักโมเลกุล โดยการทำโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตโพลีอะคริลาไมด์เจลอิเลกโตรโฟริซิส.....109

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สัญลักษณ์และคำย่อ

มก. = มิลลิกรัม

มล. = มิลลิลิตร

ซม. = เซนติเมตร

°ซ = องศาเซลเซียส

% = เปอร์เซนต์

M = โมล

mM = มิลลิโมล

nm = นาโนเมตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย