การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะสมบัติของสารต้านจุลชีพจาก *Bacillus* sp. S11

นางสาว นิโลบล พรหมประสิทธิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2542

ISBN 974-334-986-3

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PARTIAL PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF AN ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM *Bacillus* sp. S11

Miss Nilobol Promprasit

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Industrial Microbiology

Department of Microbiology
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 1999
ISBN 974-334-986-3

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนและลักษณะสมบัติของสารต้านจุลชีพจาก *Bacillus* sp. S11
โดย	นางสาว นิโลบล พรหมประสิทธิ์
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(รองศาสตราจารย์ ดร.วันชัย โพธิ์พิจิตร)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ)

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์)

.... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์)

.... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วิเชียร ริมพณิชยกิจ)

นิโลบล พรหมประสิทธิ์ : การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารต้านจุลชีพจาก *Bacillus* sp. S11 (PARTIAL PURIFICATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM *Bacillus* sp. S11) อ.ที่ปรึกษา : รศ.ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ; 104 หน้า. ISBN 974-334-986-3

Bacillus sp. S11 ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำสามารถสร้างสารต้านจุลชีพได้ในระยะ log phase ของการเจริญ ภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการสร้างสารนี้คือ การใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย สารสกัดจากยีสต์ 2 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต 0.25 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นที่ 7.0 ใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นที่ 2.0 % (ปริมาตร/ปริมาตร) อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 40 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่า 200 รอบต่อนาที

สารนี้สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ได้ 15 นาทีและถูกทำลายหมดภายในเวลา 60 นาที เมื่อเก็บไว้ที่ 100 องศาเซลเซียสแอคติวิตีของสารหมดไปภายใน 10 นาที และตรวจไม่พบแอคติวิตีของสารนี้หลังผ่านการ นึ่งฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส 20 นาที สารนี้มีแอคติวิตีได้ในช่วงพีเอชตั้งแต่ 4 –10 และปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 0 – 5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ไม่มีผลต่อแอคติวิตี ภายหลังจากการบำบัดด้วยเอนไซม์ protease, α-amylase และ lipase พบว่า protease ทำให้แอคติวิตีของสารนี้ลดลงในขณะที่เอนไซม์อีกสองชนิดไม่มีผลต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพนี้ ตัวทำละลายได้แก่ อะซีโตน อะซีโตไนไทรล์ เอธานอลและเมธานอล ไม่สามารถลดแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพนี้ได้ ในขณะที่ คลอโรฟอร์ม ไดเอธิลอีเธอร์ และโทลูอีนทำให้แอคติวิตีในชั้นของน้ำหนักลดลงได้ เมื่อนำสารต้านจุลชีพที่ผ่านการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตในช่วง 0 – 30% มาทดสอบฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียกับเชื้อทดสอบสองชนิดคือ *B. cereus* ATCC 11778 และ *V. harveyi* 639 พบว่าต้องใช้ความเข้มข้นสุดท้าย 4.10 AU/ml ในการฆ่าแบคทีเรีย *B. cereus* ATCC 11778 หมดภายใน 5 ชั่วโมง และการใช้สารนี้ที่ความเข้มข้นสุดท้ายน้อยกว่า 204.8 AU/ml ไม่สามารถฆ่า *V. harveyi* 639 ได้หมดภายในเวลา 5 ชั่วโมง

สารต้านจุลชีพที่ได้ถูกทำให้บริสุทธิ์ตามขั้นตอนดังนี้ ตกตะกอนด้วย 0–30 % แอมโมเนียมซัลเฟต ผ่านคอลัมน์ Sephadex G-50 และผ่าน DEAE- Sephadex A-25 ให้ค่า specific activity เพิ่มขึ้นจากที่มีในน้ำหมัก 28.57 AU/mg protein เป็น 1256.44, 2133.33 และ 3200 AU/mg protein ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE และจากผลการติดสี Sudan Black B พบว่าสารนี้มีมวลโมเลกุลประมาณ 3.5 kDa และมี lipid เป็นองค์ประกอบ

ภาควิชา จุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต....................................
สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา....................................
ปีการศึกษา 2542	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม -

4072291223 : MAJOR MICROBIOLOGY

KEY WORD PURIFICATION / ANTIMICROBIAL SUBSTANCE / *Bacillus* sp. S11

NILOBOL PROMPRASIT : PARTIAL PURIFICATION OF ANTIMICROBIAL SUBSTANCE FROM *Bacillus* sp. S11. THESIS ADVISOR : ASS. PROF. SIRIRAT RENGPIPAT, PhD. 104 pp. ISBN 974-334-986-3

Bacillus sp. S11, used as probiotic in *Penaeus monodon*, produced antimicrobial substance in log phase of growth cycle. In this research, the optimum conditions for production of this antimicrobial substance are medium containing 2% (w/v) yeast extract, 0.25% (w/v) dipotassium phosphate pH 7.0, 2.0% (v/v) inoculum, and aeration at 200 rpm at 40 °C.

The antimicrobial activity of cultured broth decreased after incubating at 70 and 80 °C for 15 minutes and could not be detected after 60 minutes. Its activity also disappeared after incubating at 100 °C for 10 minutes or autoclaving at 121 °C for 20 minutes. Antimicrobial substance showed its activity at the conditions of wide range of pH (4-10) and 0 – 5 % (w/v) sodium chloride. Protease could reduce the activity of the substance whereas no effect of α- amylase and lipase could be detected. The solvents such as acetone, acetonitrile, ethanol and methanol could not reduce antimicrobial activity of cultured broth whereas chloroform, diethylether and toluene could reduce this activity. Bactericidal activity of antimicrobial pellet from 0-30% saturated ammonium sulfate precipitation was tested with *B. cereus* ATCC 11778 and *V. harveyi* 639. The results showed that *B. cereus* ATCC 11778 was killed within 5 hours by this antimicrobial concentration of 4.10 AU/ml. However, *V. harveyi* 639 was not killed within 5 hours by the same substance at concentration below 204.8 AU/ml.

The purification of this substance was performed by the steps of precipitating with 0 – 30% saturated ammonium sulfate, running through Sephadex G-50 column chromatography and DEAE-Sephadex A-25 column chromatography. The specific activity of this substance increased from 28.57 AU/mg protein of cultured broth to 1256.44, 2133.33 and 3200 AU/ mg protein, respectively. The results from SDS-PAGE and Sudan Black B staining showed that this molecular weight was approximately 3.5 kDa and consisted of lipid.

ภาควิชา จุลชีววิทยา

สาขาวิชา จุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรม

ปีการศึกษา 2542

ลายมือชื่อนิสิต........................

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา........................

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของรองศาสตราจารย์ ดร. ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้ให้คำแนะนำ กำลังใจ ข้อคิดเห็นต่างๆ และการสนับสนุนทางการเงินบางส่วนในการวิจัยมาด้วยดีตลอด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้ พร้อมกันนี้ขอกราบขอบพระคุณท่านประธานในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร.ไพเราะ ปิ่นพานิชการ ท่านกรรมการในการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ทั้งสองท่าน ได้แก่ รองศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วิเชียร ริมพณิชยกิจ ที่ได้ช่วยแนะนำแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กราบขอบพระคุณ บิดา-มารดา และคุณน้าทั้งสอง ซึ่งสนับสนุนทางด้านการเงินและกำลังใจ อาจารย์ทุกท่านที่ให้ความรู้ เจ้าหน้าที่ของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในการวิจัย ขอบคุณเพื่อนๆ ที่มาแลกเปลี่ยนความคิดเห็นที่เกี่ยวข้องกับการวิจัย และเป็นกำลังใจให้เสมอ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..จ
กิตติกรรมประกาศ..ฉ
สารบัญ...ช
สารบัญตาราง..ฎ
สารบัญภาพ...ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ....ฑ
บทที่
1. บทนำ 1
1.1 ความเป็นมา...1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย...3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย...3
2. ตรวจเอกสาร 4
2.1 สารพิษ...4
2.2 เอนไซม์ที่สลายแบคทีเรีย 5
2.3 แบคเทอริโอฟาจและแบคเทอริโอฟาจที่ไม่สมบูรณ์ 5
2.4 สารที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอลิสม 6
2.5 สารปฏิชีวนะ 6
2.6 แบคเทอริโอซินและสารคล้ายแบคเทอริโอซิน 6
2.7 แบคเทอริโอซินและสารคล้ายแบคเทอริโอซินที่สร้างโดยแบคทีเรียแกรมบวก 7
2.8 สารต้านจุลชีพที่สร้างโดยแบคทีเรียในสกุลบาซิลลัส 8
2.9 *Bacillus cereus* กับการก่อโรคในคน 10
2.10 *Vibrio harveyi* กับการก่อโรคในกุ้งกุลาดำ 12
2.11 การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารต้านจุลชีพ 13

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย 21
3.1 เครื่องมือหลักที่ใช้ในการทดลอง 21
3.2 เคมีภัณฑ์ 22
3.3 เชื้อจุลินทรีย์..22
3.4 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 23
3.5 การแปรผันปริมาณกลูโคสในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง.. 23
3.6 การแปรผันสารสกัดจากยีสต์ในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง..23
3.7 การแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง...24
3.8 การแปรผันปริมาณหัวเชื้อในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง..24
3.9 การแปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง..24
3.10 การแปรผันพีเอชในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง..24
3.11 การแปรผันการให้อากาศในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิต สารต้านจุลชีพปริมาณสูง..25
3.12 การติดตามแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพด้วยวิธี Agar diffusion 25
3.13 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 25
3.14 การศึกษาผลของพีเอชต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 26
3.15 การศึกษาผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 26
3.16 การศึกษาผลของเอนไซม์ต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 26
3.17 การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 26
3.18 การศึกษา bactericidal activity โดยใช้ *B. cereus* ATCC 11778 เป็นเชื้อทดสอบ 27

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.19 การศึกษา bactericidal activity โดยใช้ *V. harveyi* 639 เป็นเชื้อทดสอบ 27
3.20 การทำบริสุทธิ์เบื้องต้นด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 27
3.21 การทำบริสุทธิ์ด้วย Gel Permeation Chromatography 28
3.22 การทำบริสุทธิ์ด้วย Ion Exchange Chromatography 28
3.23 การทดสอบแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 28
3.24 การวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE 29
4.ผลการวิจัย 30
4.1 การแปรผันปริมาณกลูโคสในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 30
4.2 การแปรผันสารสกัดจากยีสต์ในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 36
4.3 การแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 42
4.4 การแปรผันปริมาณหัวเชื้อในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 45
4.5 การแปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 51
4.6 การแปรผันพีเอชในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 54
4.7 การแปรผันการให้อากาศในการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. S11 เพื่อให้ผลิตสารต้านจุลชีพปริมาณสูง 60
4.8 การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 63
4.9 การศึกษาผลของพีเอชต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 64
4.10 การศึกษาผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 65
4.11 การศึกษาผลของเอนไซม์ต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 66
4.12 การศึกษาผลของตัวทำละลายต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 66

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.13 การศึกษา bactericidal activity โดยใช้ *B. cereus* ATCC 11778 เป็นเชื้อทดสอบ 68
4.14 การศึกษา bactericidal activity โดยใช้ *V. harveyi* 639 เป็นเชื้อทดสอบ 69
4.15 การทำบริสุทธิ์เบื้องต้นด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต..........70
4.16 การทำบริสุทธิ์ด้วย Gel Permeation Chromatography 70
4.17 การทำบริสุทธิ์ด้วย Ion Exchange Chromatography 72
4.18 การวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE 73
4.19 สรุปการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารต้านจุลชีพจาก *Bacillus* sp. S11..........76
5. การอภิปรายผล 77
6. ข้อสรุปและข้อเสนอแนะ..........84
6.1 ข้อสรุป..........84
6.2 ข้อเสนอแนะ..........85
รายการอ้างอิง 86
ภาคผนวก 94
ภาคผนวก ก. 95
ภาคผนวก ข. 96
ภาคผนวก ค. 101
ประวัติผู้เขียน 104

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ประวัติการค้นพบสารต้านจุลชีพ 2
2. ตัวอย่างเอนไซม์ที่แสดงความสามารถต้านจุลชีพ 5
3. สารต้านจุลชีพที่เป็นเปปไทด์ซึ่งสร้างโดยบาซิลลัส 9
4. จำนวนกรัม(g)ของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน..15
5. ตัวอย่างการทำให้บริสุทธิ์ของสารต้านจุลชีพ.. 19
6. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันปริมาณกลูโคส.. 34
7. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์..40
8. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์.. 44
9. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ..49
10. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง.. 53
11. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ.. 58
12. ปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันการให้อากาศในการเพาะเลี้ยง.. 62
13. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อบำบัดด้วยเอนไซม์.. 66
14. ผลของตัวทำละลายต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ.. 67
15. การทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยการตกตะกอนแอมโมเนียมซัลเฟต.. 70
16. สรุปการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารต้านจุลชีพจาก *Bacillus* sp. S11..76

สารบัญภาพ

รูปที่ หน้า

1. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณกลูโคส 31
2. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณกลูโคส 32
3. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณกลูโคส 33
4. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์ . 37
5. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์ 38
6. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณสารสกัดจากยีสต์ 39
7. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์.....42
8. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 43
9. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณโซเดียมคลอไรด์ 43
10. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ 46
11. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ 47
12. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันปริมาณหัวเชื้อ 48
13. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันอุณหภูมิ 51
14. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันอุณหภูมิ 52
15. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันอุณหภูมิ 52
16. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ 55
17. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ 56
18. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันพีเอชในอาหารเลี้ยงเชื้อ 57
19. การเจริญของ *Bacillus* sp. S11 เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันการให้อากาศ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 60
20. การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันการให้อากาศ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 61
21. แอคติวิตีของสารต้านจุลชีพเมื่อเพาะเลี้ยงโดยการแปรผันการให้อากาศ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 61

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

22. ผลของความร้อนต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 63
23. ผลของพีเอชต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 64
24. ผลของปริมาณโซเดียมคลอไรด์ต่อแอคติวิตีของสารต้านจุลชีพ 65
25. Bactericidal activity ของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อทดสอบ *B. cereus* ATCC 11778.........68
26. Bactericidal activity ของสารต้านจุลชีพต่อเชื้อทดสอบ *V. harveyi* 639.....................69
27. รูปแบบโปรตีนเมื่อผ่าน Gel Permeation Chromatography 71
28. รูปแบบโปรตีนเมื่อผ่าน Ion Exchange Chromatography 72
29. แถบโปรตีนเมื่อย้อมด้วย Coomassie Blue G-250 73
30. แถบโปรตีนเมื่อย้อมเพื่อตรวจสอบ glycoprotein 74
31. แถบโปรตีนเมื่อย้อมเพื่อตรวจสอบ lipoprotein 75
32. กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ
Lowry และคณะ (1951)..102

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ซม.	=	เซนติเมตร
มม.	=	มิลลิเมตร
มล.	=	มิลลิลิตร
AU	=	Arbitrary Unit
$^{\circ}C$	=	องศาเซลเซียส
g/l	=	กรัมต่อลิตร
kDa	=	กิโลดาลตัน
mg	=	มิลลิกรัม
mg/ml	=	มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
ml	=	มิลลิลิตร
mm	=	มิลลิเมตร
MW	=	มวลโมเลกุล
rpm	=	รอบต่อนาที
A_{280}	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร
A_{260}	=	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร