

## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก

#### อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

1. อาหารร่วน Tryptic soy agar (TSA)	1 ลิตร
สารอาหาร	
Bacto-Tryptone	10 g
Bacto-Soytone	3 g
Bacto-Dextrose	2.5 g
Sodium Chloride	5 g
Agar	15 g
pH	7.3
2. อาหารเหลว Tryptic soy broth (TSB)	1 ลิตร
สารอาหาร	
Bacto-Tryptone	10 g
Bacto-Soytone	3 g
Bacto-Dextrose	2.5 g
Sodium Chloride	5 g
Dipotassium Phosphate	2.5 g
pH	7.3

## 3. อาหารฐาน Thiosulfate Citrate Bile Sucrose (TCBS) 1 ลิตร

## สารอาหาร

Bacto-Yeast extract	1 g
Bacto-Proteose Peptone No.3	10 g
Sodium Citrate	10 g
Bacto-Oxgall	8 g
Bacto-Saccharose	20 g
Sodium Chloride	10 g
Ferrous Citrate	1 g
Bacto-Brom Thymol Blue	0.04 g
Thymol Blue	0.04 g
Agar	15 g
pH	8.6

log OD<sub>595</sub>      V:harvey (log CFU/ml)

-2.70      8.73

-2      7.43

-1.25      8.12

-0.55      8.82

0.15      9.52

ภาคผนวก ข  
ผลการทดลอง

ตารางภาคผนวกที่ 1 การวัดความขุ่นที่  $OD_{660}$  ของเชื้อ *V. harveyi* ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร  
เหลว TSB (เติม 1.5%NaCl) ที่ pH และ เวลา ต่างๆ

เวลา(ชั่วโมง)	$OD_{660}$		
	pH 7	pH 8	pH 9
0	0.17	0.17	0.16
6	2.29	2.85	2.25
12	3.92	4.15	3.93
24	5.5	5.6	4.8
48	4.3	4.9	4.8

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเปรียบเทียบปริมาณการดูดกลืนแสงที่  $OD_{660}$  ในรูปของ  
 $\log OD_{660}$  และ จำนวน CFU/ml ของ *V. harveyi* ในรูปของ  $\log$   
 $OD_{660}$  กับค่า  $\log$  CFU/ml

$\log OD_{660}$	<i>V. harveyi</i> ( $\log$ CFU/ml)
-2.70	6.73
-2	7.43
-1.25	8.12
-0.55	8.82
0.15	9.52

ตารางภาคผนวกที่ 3 การวัดความขุ่นที่ OD<sub>660</sub> ของเชื้อ *V. harveyi* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB+1.5%NaCl ที่อุณหภูมิ และ เวลาต่างๆ กัน

อุณหภูมิ (°C)	เวลา(ชั่วโมง)						
	0	6	12	24	48	72	96
25	0.018	0.43	5.58	7.02	6.7	5.31	4.09
30	0.041	1.22	5.29	7.03	6.27	5.41	3.94
37	0.023	0.43	5.35	6.05	6.08	4.96	4.01

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงค่า OD<sub>660</sub> ของ *B. subtilis* ABS-D10 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB (เติม 1.5%NaCl) ที่ pH และ เวลา ต่างๆ

เวลา(ชั่วโมง)	OD <sub>660</sub>		
	pH 7.0	pH 8.0	pH 9.0
0	0.16	0.17	0.15
6	2.32	2.09	1.61
12	4.28	4.35	4.10
24	7.32	7.47	6.08
48	6.9	6.69	5.76
72	3.91	3.84	3.25

ตารางภาคผนวกที่ 5 การเปรียบเทียบปริมาณการดูดกลืนแสงที่ OD<sub>660</sub> และจำนวน CFU/ml ของ *B. subtilis* ABS-D10 ในรูป log OD<sub>660</sub> กับค่า log CFU/ml

log OD <sub>660</sub>	<i>B. subtilis</i> ABS-D10(log CFU/ml)
-2.8	5.27
-1.8	5.59
-1.1	6.67
-0.4	7.37
0.301	8.07

ตารางภาคผนวกที่ 6 แสดงการทดสอบสารออกฤทธิ์จากเชื้อ *B. subtilis* ABS-D10 รูปแบบต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *V. harveyi*

เชื้อรูปแบบต่างๆ	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (mm)
Sc	13
Sn	12
Sb	13
Sbn	13
10Sb	24

หมายเหตุ

Sc : น้ำเลี้ยงเชื้อที่มีตัวเซลล์

Sn : น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการปั่นแยกเซลล์

Sb : น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทำให้เซลล์แตกและกรอง

Sbn : น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทำให้เซลล์แตกและปั่นแยกเซลล์

10 Sb: น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการทำให้เซลล์แตกกรองแยก และทำให้เข้มข้นเพิ่มขึ้น 10 เท่า

ตารางภาคผนวกที่ 7 แสดงการทนความร้อนของสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ

*B. subtilis* สายพันธุ์ ABS-D10

เชื้อ	บริเวณยับยั้งที่ได้จากการบ่มเชื้อไว้ 1 คืน (mm)	
	Sb	Sbh
<i>B. subtilis</i> ABS-D10	12	-

หมายเหตุ Sb - Supernatant ที่ได้จากเชื้อที่ถูกทำให้เซลล์แตก

Sbh - Supernatant ที่ได้จากเชื้อที่ถูกทำให้เซลล์แตก และนำไปเข้าหม้อนึ่ง

อัตโนมัติที่ความดัน 5 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 °C นาน 5 นาที