

# สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
Abstract	(5)
กิตติกรรมประกาศ	(6)
สารบัญ	(7)
รายการตาราง	(8)
รายการตารางภาคผนวก	(9)
รายการรูป	(10)
ตัวย่อและสัญลักษณ์	(12)
1. บทนำ	1
บทนำต้นเรื่อง	1
ตรวจเอกสาร	4
วัตถุประสงค์	32
2. วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ	33
วัสดุ	33
อุปกรณ์	34
วิธีการ	35
3. ผลการทดลอง	44
4. วิจารณ์	63
5. สรุป	71
เอกสารอ้างอิง	72
ภาคผนวก	83
ประวัติผู้เขียน	89

## รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	โรคติดเชื้อจุลินทรีย์ที่พบในกุ้งกุลาดำ	4
2	ลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ใช้ในการจำแนกแบคทีเรีย <i>V. harveyi</i>	11
3	ผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกที่มีจำหน่ายโดยบริษัทเอกชน	18
4	ลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีที่ใช้ในการจำแนกแบคทีเรีย <i>B. subtilis</i>	22
5	สารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก <i>B. subtilis</i>	23
6	การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาค่า LD <sub>50</sub> ที่ 14 วัน	47
7	ผลที่ได้จากการยับยั้งเชื้อ <i>V. harveyi</i> 046 โดยเชื้อ <i>B. subtilis</i> 27 สายพันธุ์	50
8	ผลการยับยั้งเชื้อ <i>V. harveyi</i> 046 โดย <i>B. subtilis</i> ABS-D10 หลังจากผสมเชื้อไว้ 0 ชั่วโมง บนอาหาร TSA (เติม 1.5%NaCl)	59
9	ผลการยับยั้งเชื้อ <i>V. harveyi</i> 046 โดย <i>B. subtilis</i> ABS-D10 หลังจากผสมเชื้อไว้ 24 ชั่วโมง บนอาหาร TSA (เติม 1.5%NaCl)	60
10	ผลการยับยั้ง <i>V. harveyi</i> โดยสารสกัดยับยั้งจากน้ำเลี้ยงเชื้อ <i>B. subtilis</i> ABS-D10	61
11	การหาปริมาณของเชื้อ <i>V. harveyi</i> ที่ถูกยับยั้งด้วยสารสกัดยับยั้ง จากเชื้อ <i>B. subtilis</i> ABS-D10	62

## รายการตารางภาคผนวก

ตารางภาคผนวกที่	หน้า	
1	การวัดความขุ่นที่ OD <sub>660</sub> ของเชื้อ <i>V. harveyi</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB (เติม 1.5% NaCl) ที่ pH และ เวลาต่างๆ	85
2	การเปรียบเทียบปริมาณการดูดกลืนแสงที่ OD <sub>660</sub> ในรูปของ log OD <sub>660</sub> และ จำนวน CFU/ml ของ <i>V. harveyi</i> ในรูปของ log CFU/ml	85
3	การวัดความขุ่นที่ OD <sub>660</sub> ของเชื้อ <i>V. harveyi</i> ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB (1.5% NaCl) ที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ	86
4	แสดงค่า OD <sub>660</sub> ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว TSB (เติม 1.5% NaCl) ที่ pH และเวลาต่าง ๆ	86
5	การเปรียบเทียบปริมาณการดูดกลืนแสงที่ OD <sub>660</sub> และจำนวน CFU/ml ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ในรูป log OD <sub>660</sub> กับ log CFU/ml	87
6	แสดงการทดสอบสารออกฤทธิ์จากเชื้อ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 รูปแบบต่าง ๆ ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>V. harveyi</i>	87
7	แสดงการทนความร้อนของสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ <i>B. subtilis</i> สายพันธุ์ ABS-D10	88
8	การทดสอบฤทธิ์ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ในภาวะ pH ต่างๆ	89
9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log OD <sub>660</sub> กับค่า log CFU/ml ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10	90
10	ภาพเจริญของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ที่เลี้ยงบนอาหารทึบ TSA ที่เติม NaCl ลงไปให้มีค่าความเข้มข้น 5, 25, 50, 75 และ 100 ppt ตามลำดับ	91
11	การออกฤทธิ์ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 รูปแบบต่างๆ	92
12	ผลกระทบต่อการเจริญของ <i>V. harveyi</i>	93

## รายการรูป

รูปที่		หน้า
1	โครงสร้างเปปติโดไกลเคน	6
2	รูปแบบการเรืองแสงในที่มืดของแบคทีเรียเรืองแสง	10
3	โครงสร้างทางเคมีของสารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก <i>Bacillus</i> sp.	27
4	แผนผังการสกัดสารปฏิชีวนะอย่างหยาบ	43
5	กราฟแสดงการเจริญของ <i>V. harveyi</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ pH ต่าง ๆ	44
6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงในรูปแบบ $\log OD_{660}$ กับค่าปริมาณเชื้อในรูปแบบ $\log CFU/ml$ ของเชื้อ <i>V. harveyi</i>	45
7	กราฟแสดงการเจริญของ <i>V. harveyi</i> ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	44
8	ตัวอย่างการยับยั้งการเจริญของ <i>V. harveyi</i> โดย <i>B. subtilis</i> 8 สายพันธุ์ จากทั้งหมด 27 สายพันธุ์	51
9	การยับยั้งการเจริญของ <i>V. harveyi</i> โดย <i>B. subtilis</i> 5 สายพันธุ์	52
10	การยับยั้งการเจริญของ <i>V. harveyi</i> โดย <i>B. subtilis</i> 5 สายพันธุ์ ชุดที่สอง (supernatant) กรองและทำให้ความเข้มข้นเพิ่มขึ้น 10 เท่า	52
11	กราฟการเจริญของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ในสภาวะ pH ต่างๆ	53
12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง $\log OD_{660}$ กับค่า $\log CFU/ml$ ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10	54
13	การเจริญของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ที่ศึกษาบนอาหารร่วน TSA ที่เติม NaCl ลงไปให้มีความเข้มข้น 5, 25, 50, 75 และ 100 ppt ตามลำดับ	55
14	การออกฤทธิ์ของ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 รูปแบบต่างๆ ต่อการยับยั้งการเจริญของ <i>V. harveyi</i>	56

## รายการรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
15	การยับยั้ง <i>V. harveyi</i> โดยสารออกฤทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ <i>B. subtilis</i> ABS-D10 ที่ผ่านและไม่ผ่านหม้อนึ่งไอน้ำ ความดัน 15 ปอนด์ / ตารางนิ้วอุณหภูมิ 121 °C นาน 5 นาที	58

## ตัวย่อและสัญลักษณ์

°C	=	degree Celcius
%	=	percent
β	=	beta
CFU	=	colony forming unit
g	=	gram
g	=	acceleration (cm/sec <sup>2</sup> )
μg	=	microgram
μl	=	microlitre
μm	=	micrometre
LD <sub>50</sub>	=	lethal dose 50%
mg	=	milligram
MBC	=	minimal bactericidal concentration
MIC	=	minimal inhibitory concentration
ml	=	millilitre
mm	=	millimetre
nm	=	nanometre
OD	=	optical density
pH	=	hydrogen ion concentration
ppm	=	parts per million
ppt	=	parts per thousand
N	=	Normality
rpm	=	round per minute