

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Man Rogosa and Sharpe (MRS)

Dextrose	20.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Yeast extract	4.0	กรัม
Beef extract	8.0	กรัม
Sodium acetate	5.0	กรัม
Ammonium citrate	2.0	กรัม
Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
Magnesium sulphate	0.2	กรัม
Manganese sulphate	0.04	กรัม
Tween 80	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

หมายเหตุ อาหารวุ้น MRS เตรียมโดยเติมผงวุ้น 1.5 เปอร์เซ็นต์

อาหารกึ่งแข็ง MRS เตรียมโดยเติมผงวุ้น 0.75 เปอร์เซ็นต์

2. Nutrient Broth

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ถ้าต้องการอาหารแข็งให้เติมผงวุ้น 15 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Tryptic soy broth (TSB)

ใช้อาหารสำเร็จของ Merck ซึ่งประกอบด้วย

Tryptone	5.0	กรัม
Soytone	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายอาหารสำเร็จ TSB ปริมาณ 30 กรัม ต่อลิตร แล้วนำมาเชื่อมด้วยหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. Xylose Lysine agar (XLD)

ใช้อาหารสำเร็จของ Difco ซึ่งประกอบด้วย

Yeast extract	3.0	กรัม
L-Lysine	5.0	กรัม
Xylose	3.75	กรัม
Lactose	7.5	กรัม
Saccharose	7.5	กรัม
Sodium Desoxycholate	2.5	กรัม
Ferric ammonium citrate	0.8	กรัม
Sodium Thiosulfate	6.8	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Phenol red	0.08	กรัม
Agar	15.0	กรัม

การเตรียม ทำการละลายอาหารสำเร็จ XLD ปริมาณ 57 กรัม ในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 1 ลิตรให้ความร้อนเพื่อละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน เพื่อหลีกเลี่ยงการใช้ความร้อนมากเกินไป ไม่ควรนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส

5. Eosin Methylene Blue (EMB)

ใช้อาหารสำเร็จของ Merck ซึ่งประกอบด้วย

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
Dipotassium phosphate	2.0	กรัม
Eosin yellow	0.4	กรัม
Methylene Blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม

การเตรียม ทำการละลายอาหารสำเร็จ EMB ปริมาณ 36 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

6. มอลต์สกัดทางการค้า

มอลต์สกัดทางการค้า	20.0	กรัม
น้ำตาลทรายแดง (brown sugar)	15.0	กรัม
Yeast extract	8.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดเข้าด้วยกัน แล้วนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

การจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก

การจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลกติก

1. การตรวจสอบลักษณะพื้นฐาน, สรีระ และสมบัติทางชีวเคมี

1.1 การตรวจสอบการติดสีแกรม

เจียเชื้อบริสุทธิ์มาทำการเสมียร์เชื้อลงบนแผ่นสไลด์ ตรึงเซลล์ด้วยความร้อน จากนั้นหยดสียคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) ให้ทั่วรอยเสมียร์ ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีที่เหลือทิ้งแล้วชะด้วยสารละลายไอโอดีนนาน 1 นาที เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยสารละลายแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ล้างแผ่นสไลด์ทันทีด้วยน้ำกลั่น โดยให้น้ำผ่านเบาๆ แล้วจึงย้อมด้วยสารละลายซาฟรานินโอ (safranin O) เป็นเวลา 30 วินาที ล้างด้วยน้ำกลั่นอีกครั้ง ซับแผ่นสไลด์ให้แห้ง นำไปตรวจสอบลักษณะของเซลล์ และการจัดเรียงตัวภายใต้กล้องจุลทรรศน์

1.2 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะตาเลส (catalase)

เจียโคโลนีของเชื้อบริสุทธิ์ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ลงบนกระดาดกรองที่หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 3 เปอร์เซ็นต์ ผสมให้เข้ากัน ถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียดังกล่าวให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงแสดงว่าให้ผลเป็นลบ

1.3 การทดสอบการสร้างก๊าซ

เจียเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS ที่ใส่หลอดดักก๊าซ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แบคทีเรียกลุ่ม Heterofermentative bacteria จะพบก๊าซในหลอดดักก๊าซ ส่วนแบคทีเรียกลุ่ม Homofermentative bacteria จะไม่พบก๊าซในหลอดดักก๊าซ

1.4 การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ

เจียเชื้อบริสุทธิ์ ลงในอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญโดยสังเกตจากความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อบ่ม 24 ชั่วโมงและ ภายใน 7 วัน

1.5 การทดสอบความทนเกลือ

ทำการตรวจสอบความสามารถในการเจริญ ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้นต่างๆ โดยเชื้อที่ทำการเพาะเลี้ยง 18-24 ชั่วโมง ลงในอาหารเหลว MRS ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ 6.5 และ 18 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญโดยสังเกตจากการความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อภายในเวลา 7 วัน

1.6 การตรวจสอบความสามารถในการเจริญที่ระดับความเป็นกรดต่างๆ

เชื้อเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS ที่ทำการปรับความเป็นกรดต่าง 4.5 และ 9.6 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบผลโดยสังเกตจากการความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 7 วัน

ภาคผนวก ค

การหาปริมาณกรดทั้งหมด

การหาปริมาณกรดทั้งหมด (total acids)

1. สารเคมี

1.1 เตรียมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ โดยนำน้ำกลั่นมาต้มเดือดนาน 20 นาที

1.2 สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม ที่เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดพลาสติก ก่อนนำไปใช้หาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH ทำได้โดยชั่ง acid potassium phthalate (อบ 2 ชั่วโมง ที่ 120 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้ง) อย่างละเอียด ประมาณ 0.3 กรัม เติมน้ำกลั่นในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จึงเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 50 มิลลิลิตร เมื่อ acid potassium phthalate ($\text{KHC}_2\text{H}_4\text{O}_4$) ละลายจึงเติมสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน 3 หยด แล้วไตเตรตด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH จดบันทึกค่า NaOH ที่ใช้ไปเป็นมิลลิลิตร และคำนวณความเข้มข้นมาตรฐานจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม KHC}_2\text{H}_4\text{O}_4 \times 1,000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

1.3 สารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน (phenolphthalein) เตรียมโดยชั่งฟีนอล์ฟทาเลอิน 1 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. วิธีวิเคราะห์

ปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์จากอาหารเหลว MRS ด้วยความเร็ว 9,000 รอบต่อนาที ดูดสารละลายใสปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรใส่ในฟลาสก์ เติมน้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน 1-2 หยด ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ (เปลี่ยนเป็นสีชมพู) คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแลคติก โดยสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด} = \frac{N \times V \times 90.01 \times 100}{1,000 \times 1}$$

N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

ภาคผนวก ง

ผลการทำ BLASTn ของแบคทีเรียกรดแลคติก

ผลการทำ BLASTn ของแบคทีเรียกรดแลคติก

>gi|55975493|gb|AY653231.1| *Enterococcus faecium* 16S ribosomal RNA gene, partial sequence Length=1332

Score = 954 bits (481), Expect = 0.0
Identities = 481/481 (100%), Gaps = 0/481 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query 1      ATTGGAAGCTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGGAATTCATGTGTAGCGGTGA 60
|||||
Sbjct 611    ATTGGAAGCTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAGAGTGGGAATTCATGTGTAGCGGTGA 670

Query 61     AATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTAC 120
|||||
Sbjct 671    AATGCGTAGATATATGGAGGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTAC 730

Query 121    GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA 180
|||||
Sbjct 731    GCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTA 790

Query 181    AACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA 240
|||||
Sbjct 791    AACGATGAGTGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAA 850

Query 241    GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG 300
|||||
Sbjct 851    GCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCG 910

Query 301    CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTG 360
|||||
Sbjct 911    CACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTG 970

Query 361    ACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTG 420
|||||
Sbjct 971    ACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCTTCGGGGGCAAAGTGACAGGTGGTG 1030

Query 421    CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC 480
|||||
Sbjct 1031   CATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACC 1090

Query 481    C      481
|
Sbjct 1091   C      1091

```

ภาพผนวกที่ 1 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน partial 16s rRNA sequence ของ แบคทีเรีย *โพรเซส PR-2* (เส้นบน) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ *Enterococcus faecium* AY653231 (เส้นล่าง)

>gi|88186616|gb|DQ393004.1| Rumen bacterium 7/94-24 16S ribosomal RNA gene,
partial sequence Length=1519

Score = 848 bits (428), Expect = 0.0
Identities = 462/474 (97%), Gaps = 0/474 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query 1      ACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT 60
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 639    ACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT 698

Query 61     AGATATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGG 120
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 699    AGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGG 758

Query 121    CTCGAAAGTATGGGGAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG 180
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 759    CTCGAAAGTATGGGTAGCAAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG 818

Query 181    AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC 240
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 819    AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC 878

Query 241    GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC 300
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 879    GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCCGCACAAGC 938

Query 301    GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCT 360
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 939    GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATACT 998

Query 361    ATGACCACCCTAGAGATTAAACGTTCCCTTCGGGGACATGGAGACAGGTGGTGCATGGTT 420
          |||  |  |  |  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 999    ATGCCAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT 1058

Query 421    GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC 474
          |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||  |||||
Sbjct 1059   GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC 1112

```

ภาพผนวกที่ 2 แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน partial 16s rRNA

sequence ของ แบคทีเรียโอโซเลต MG-2 (เส้นบน) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ

Rumen bacterium DQ393004 (เส้นล่าง)

>gi|56267959|gb|AY823498.1| *Lactobacillus plantarum* strain 4S6R 16S
ribosomal RNA gene, partial sequence Length=591

Score = 940 bits (474), Expect = 0.0
Identities = 474/474 (100%), Gaps = 0/474 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query 1  ACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT  60
      |||
Sbjct 37  ACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT  96

Query 61  AGATATATGGAAGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGG  120
      |||
Sbjct 97  AGATATATGGAAGAACACCACTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGG  156

Query 121  CTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG  180
      |||
Sbjct 157  CTCGAAAGTATGGGTAGCAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG  216

Query 181  AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC  240
      |||
Sbjct 217  AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC  276

Query 241  GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGC  300
      |||
Sbjct 277  GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGC  336

Query 301  GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATACT  360
      |||
Sbjct 337  GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATACT  396

Query 361  ATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT  420
      |||
Sbjct 397  ATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT  456

Query 421  GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC  474
      |||
Sbjct 457  GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC  510

```

ภาพผนวกที่ 33 แสดงผลการการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน partial 16s rRNA
sequence ของ แบคทีเรียไอโซเลต IFS-1 (เส้นบน) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ
Lactobacillus plantarum AY823498 (เส้นล่าง)

>gi|56267959|gb|AY823498.1| *Lactobacillus plantarum* strain 4S6R 16S ribosomal RNA gene, partial sequence Length=591

Score = 940 bits (474), Expect = 0.0
Identities = 474/474 (100%), Gaps = 0/474 (0%)
Strand=Plus/Plus

```

Query 1  ACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT 60
      |||
Sbjct 37  ACTGGGAACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGT 96

Query 61  AGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGG 120
      |||
Sbjct 97  AGATATATGGAAGAACACCAAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACGACGCTGAGG 156

Query 121  CTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG 180
      |||
Sbjct 157  CTCGAAAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATG 216

Query 181  AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC 240
      |||
Sbjct 217  AATGCTAAGTGTGGAGGGTTTCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCC 276

Query 241  GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGC 300
      |||
Sbjct 277  GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGC 336

Query 301  GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATACT 360
      |||
Sbjct 337  GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCCTACCAGGTCTTGACATACT 396

Query 361  ATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT 420
      |||
Sbjct 397  ATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTT 456

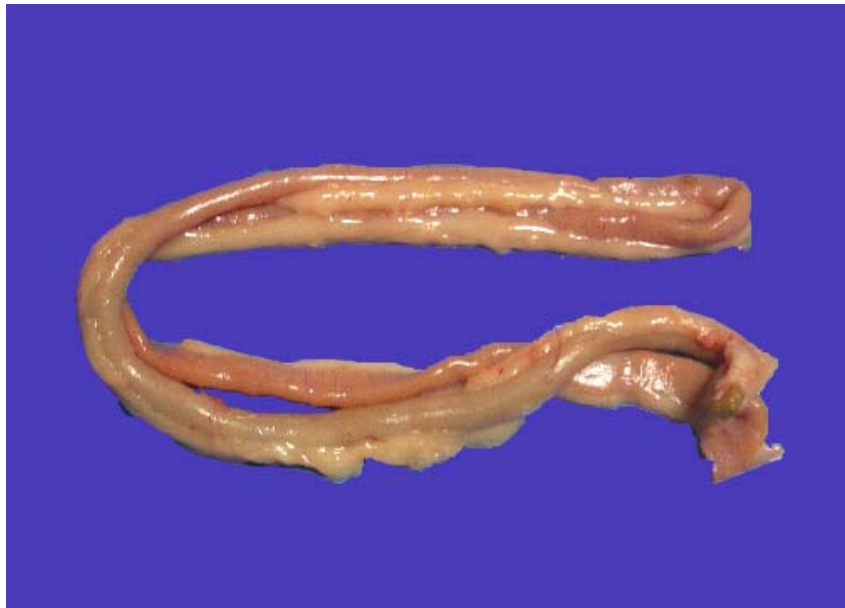
Query 421  GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC 474
      |||
Sbjct 457  GTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCC 510

```

ภาพผนวกที่ ๔ แสดงผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน partial 16s rRNA sequence ของ แบคทีเรียไอโซเลต IG-3 (เส้นบน) กับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* AY823498 (เส้นล่าง)

ภาคผนวก จ

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในลำไส้ไก่



ภาพผนวกที่ จ1 ลักษณะของไส้ส่วนไอเลียม (ileum)



ภาพผนวกที่ จ2 ลักษณะของไส้ส่วนซีกัม (cecum)



ภาพผนวกที่ จ3 การนับจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยวิธีการ pour plate