

สุปราณี พึ่งแพง 2554: การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านจุลินทรีย์จากเชื้อ *Bacillus* สายพันธุ์ B-1 ที่คัดแยกได้จากบ่อเลี้ยงปลา และการทำให้บริสุทธิ์ ปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ชลอ ลิมสุวรรณ, Ph.D. 91 หน้า

Bacillus สายพันธุ์ B-1 ที่คัดแยกได้จากบ่อเลี้ยงปลาในสถานีวิจัยประมงกำแพงแสน คณะประมงมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ถูกนำมาใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านจุลินทรีย์ โดยนำแบคทีเรีย *Bacillus* สายพันธุ์ B-1 มาจำแนกชนิดของแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค 16 S rDNA พบว่าเป็นเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-1 ซึ่งเชื่อมีความสามารถในการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus agalactiae* ABRCS 01, *Aeromonas hydrophila* ABRCA 01, *Staphylococcus aureus* ATCC 12600, *Listeria innocua* ATCC 33090, *Micrococcus luteus* IFO 12708, *Bacillus circulans* JCM 2504 และ *Bacillus coagulans* JCM 2257 เมื่อทดสอบด้วยเทคนิค spot on lawn, agar well diffusion, ทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพของสารต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* สายพันธุ์ B-1 โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Listeria innocua* ATCC 33090 เป็นเชื้อทดสอบ เนื่องจากเชื้อ *Listeria innocua* ATCC 33090 ซึ่งมีความไวต่อสารต้านจุลินทรีย์ในการยับยั้งสูงสุด (320 AU ต่อมิลลิเมตร) พบว่าสารต้านจุลินทรีย์สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้นาน 50 นาที (320 AU ต่อมิลลิเมตร) และสารต้านจุลินทรีย์ให้ค่ากิจกรรมสูงสุดของสารที่ 320 AU ต่อมิลลิเมตร เมื่ออยู่ที่ค่า pH ระหว่าง 2.0-10.0 เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และให้ค่ากิจกรรมสูงสุดของสารจะลดลง เมื่ออยู่ที่ค่า pH ระหว่าง 2.0-8.0 ในอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที สารต้านจุลินทรีย์ของเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* B-1 มีความไวต่อการถูกย่อยโดยเอนไซม์ α -chymotrypsin, trypsin, proteinase K และ protease นอกจากนี้สารต้านจุลินทรีย์ยังสามารถคงตัวได้เมื่ออยู่ในสถานะที่มีโซเดียมคลอไรด์ 3, 6, 9, 12 และ 15% เมื่อสกัดสารต้านจุลินทรีย์ออกจากน้ำเลี้ยงแบคทีเรีย โดยใช้ amberlite เป็นตัวดูดซับและใช้เครื่อง HPLC เป็นตัวแยกสารต้านจุลินทรีย์ พบว่ามีเพียง fraction เดียว (B1-1) ที่เวลา 30.221 นาที มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบ และ fraction ดังกล่าวมีน้ำหนักโมเลกุล 3,398.05 ดาลตัน เมื่อวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค mass spectrometry (MALDI-TOF) และวิเคราะห์แยกส่วนประกอบของสารต้านจุลินทรีย์โดยใช้เทคนิค 2D-PAGE พบ 5 จุดบนเจล ตัดเจลแต่ละจุดมาผ่านเข้าเครื่อง LC-MS/MS พบว่าจุดที่ 3 และจุดที่ 5 ที่มีฐานข้อมูลสัมพันธ์กับสารต้านจุลินทรีย์กลุ่ม mycosubtilin และ lipopeptide ตามลำดับ