

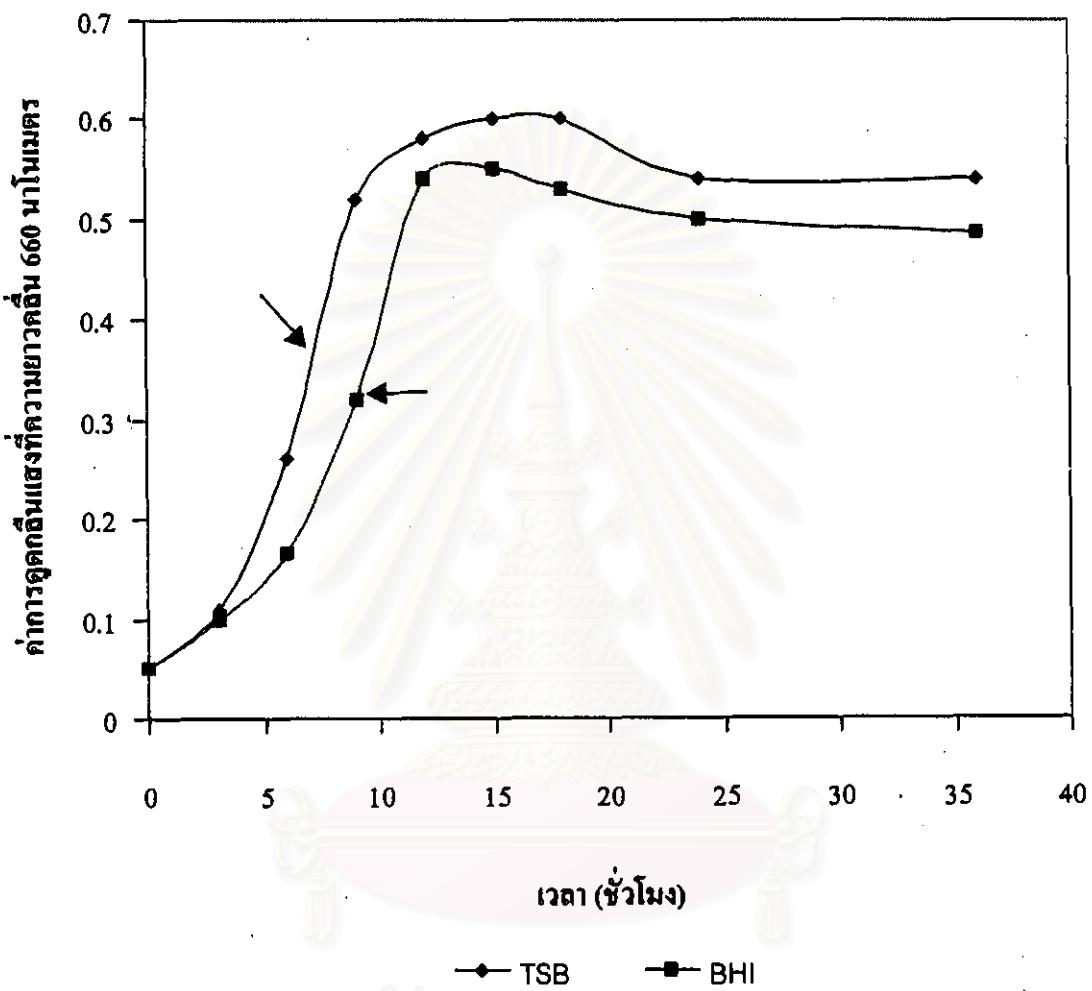
บทที่ ๓

ผลการทดลอง

3.1 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเจริญพื้นเติบโตของเชื้อแบคทีเรียหัวใจซึ่งตั้งต้นด้วย *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦 Brain Heart Infusion (BHI) และ Tryptic Soy Broth (TSB)

เกี้ยง *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ต้นที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ ในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦เพื่อการเจริญ 2 ชนิด คือ BHI และ TSB (ภาคผนวก ก ข้อ 1) ในระดับขวดเบ่า ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ไม่มีการเพิ่มน้ำ วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรที่ระยะเวลาต่างๆ ได้ผลดังรูปที่ 16 พบว่า การเจริญของ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦 TSB ให้การเจริญของ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 สูงกว่าเมื่อเทียบในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦 BHI โดยการเจริญสูงสุดทั้งใน TSB และ BHI ในชั่วโมงที่ 15 และระยะเวลาที่กึ่งกลางทวี谷 (mid log phase) ในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦 TSB อยู่ที่ชั่วโมงที่ 7 และในอาหารเดี้ยงเชือเหก瓦 BHI อยู่ที่ชั่วโมงที่ 9

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 รูปแบบการเจริญของ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเตี๊ยงเชือหัว BHI และ TSB สำหรับเดือนหัวเชือตั้งต้น ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการเขย่า

(สุกคร ————→ : แสดงเวลา กึ่งก่อตางทวีคุณของเชือในอาหารเตี๊ยงเชือ)

3.2 การเจริญและการผลิตกรดไฮยาคูโรนิกไซด์ Streptococcus zooepidemicus ATCC 35246 ในอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุเพื่อการผลิตไซด์เปรีบันเที่ยบระหว่างเชื้อตั้งต้นที่เจริญในอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุ TSB และ BHI

เดี๋ยงเชื้อ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุเพื่อการเจริญ 2 ชนิดคือ BHI และ TSB ในภาวะที่ไม่มีการขยายตัวที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญถึงช่วงกึ่งกลางทวีภูมิ (mid log phase) ปีกดต์เชื้อตั้งต้นปริมาณ 20 เบอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรของอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุ) ลงในอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุสูตรปรับปุงจาก Nimrod (1986) (ภาคผนวก ก ข้อ 2) โดยมีค่าความเป็นกรด-ค้างเริ่มต้นเท่ากับ 6.8 ตามรายงานของ บำรุง ศรีวงศ์ (2540) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) พร้อมให้อาหารโดยการขยายตัวที่ความเร็วอน 200 รอบต่อนาที พบว่าการเจริญและการผลิตกรดไฮยาคูโรนิกของเชื้อตั้งต้นที่เจริญใน BHI และ TSB ให้การเจริญและปริมาณกรดไม่แตกต่างกันนักโดยให้ปริมาณกรดไฮยาคูโรนิกสูงสุดที่ช้าในงที่ 24 เป็น 192.21 และ 189.16 มิลลิกรัมต่อดิล ตามลำดับ

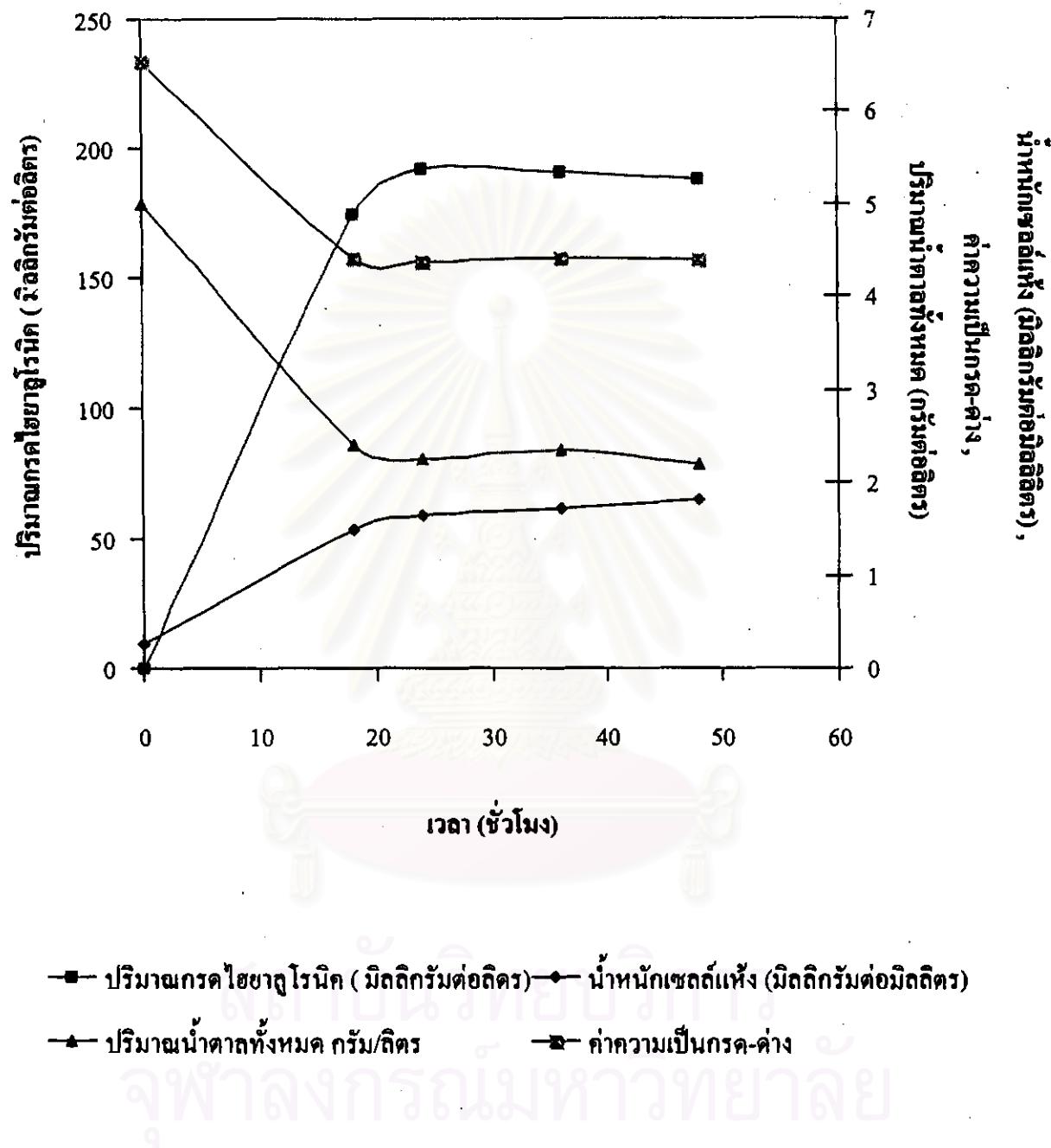
ดังนั้นจึงเลือกใช้อาหารเหตุ TSB ใน การเตรียมหัวเชื้อตั้งต้น เมื่อจากให้อัตราการเจริญของ *S.zooepidemicus* ATCC 35246 สูงกว่าในอาหารเหตุ BHI และ อาหารเดี๋ยงเชื้อ TSB ซึ่งเป็นอาหารที่มีราคาถูกกว่าอาหารเดี๋ยงเชื้อ BHI อีกด้วย

**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

ตารางที่ 3 การเจริญ , กรณีเชื้อโรคที่ปอดปล่องออกในอาหารเดือing เชื้อ , ปริมาณน้ำตาลทึ้งหมวด และ ค่าความเป็นกรด-ค่างของอาหารเดือing เชื้อเหลวเพื่อการผสัตติ โดยใช้เชื้อตั้งต้น *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ที่เจริญใน BHI และ TSB , ที่อุณหภูมิห้อง , อัตราเร็วในการเจริญ 200 รอบต่อนาที

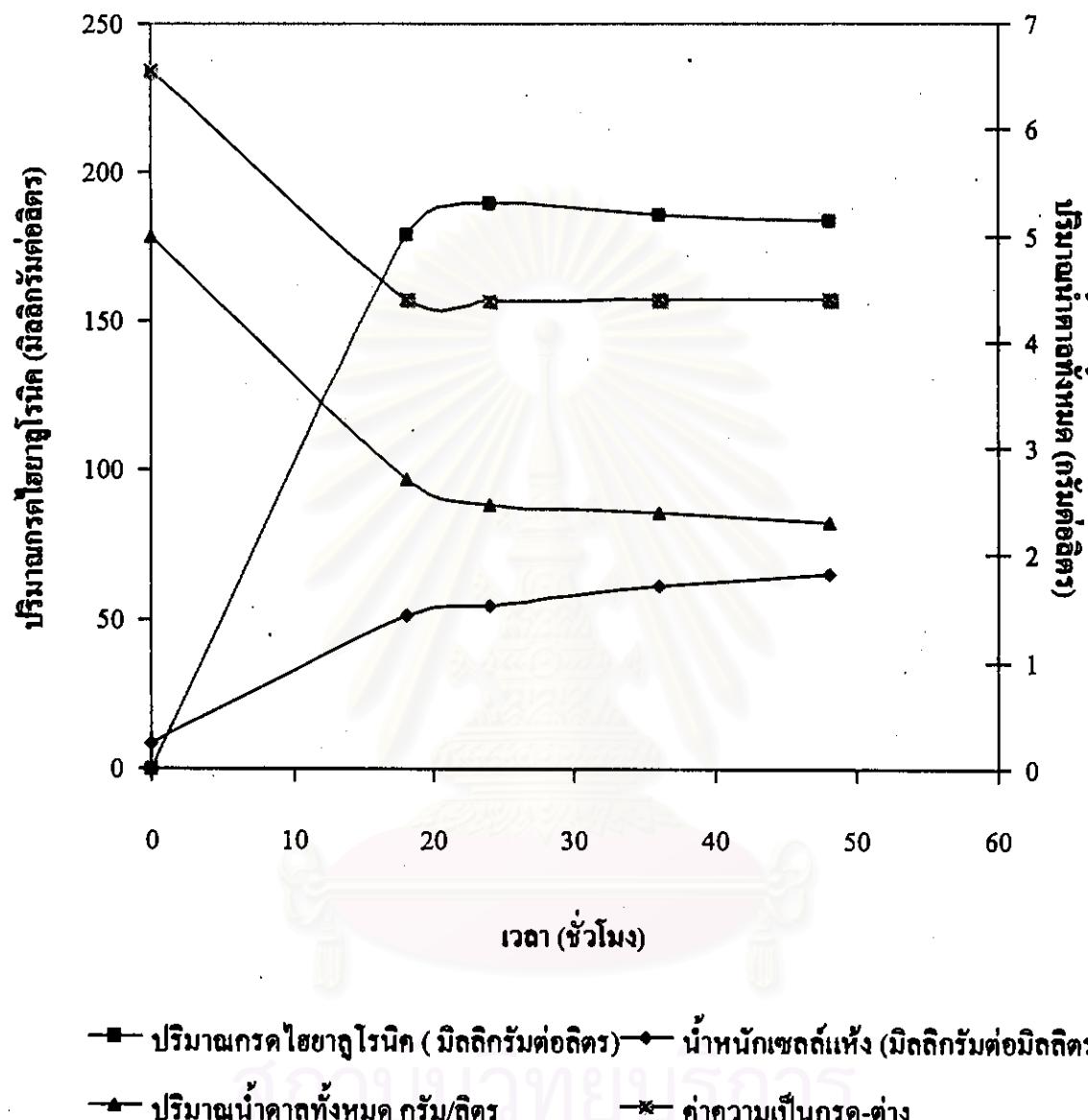
เวลา	หัวเชื้อที่เจริญในอาหารเหตุ BHI			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มก./มล.)	ปริมาณกรณีเชื้อโรค มิลลิกรัม/ลิตร	ปริมาณน้ำตาลทึ้งหมวด กรัม/ลิตร	pH
0	0.267	0	5.00	6.55
18	1.487	174.38	2.40	4.40
24	1.633	192.21	2.26	4.37
36	1.720	190.62	2.35	4.40
48	1.813	187.81	2.20	4.38

เวลา	หัวเชื้อที่เจริญในอาหารเหตุ TSB			
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มก./มล.)	ปริมาณกรณีเชื้อโรค มิลลิกรัม/ลิตร	ปริมาณน้ำตาลทึ้งหมวด กรัม/ลิตร	pH
0	0.243	0	5.00	6.55
18	1.441	178.82	2.70	4.41
24	1.538	189.16	2.46	4.38
36	1.711	185.20	2.40	4.40
48	1.815	183.51	2.30	4.41



รูปที่ 17 การเจริญ, การผลิตกรดไไซยาซูโรนิก, ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และ ค่าความเป็นกรด-ค้างของอาหารเตียงเชื้อเพลิงเพื่อการผลิตโดยใช้เชื้อตั้งต้น *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ที่เจริญใน BHI, ที่อุณหภูมิห้อง, อัตราเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที

น้ำหนักเซลล์แห้ง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร),
ค่าความเป็นกรด-ด่าง,

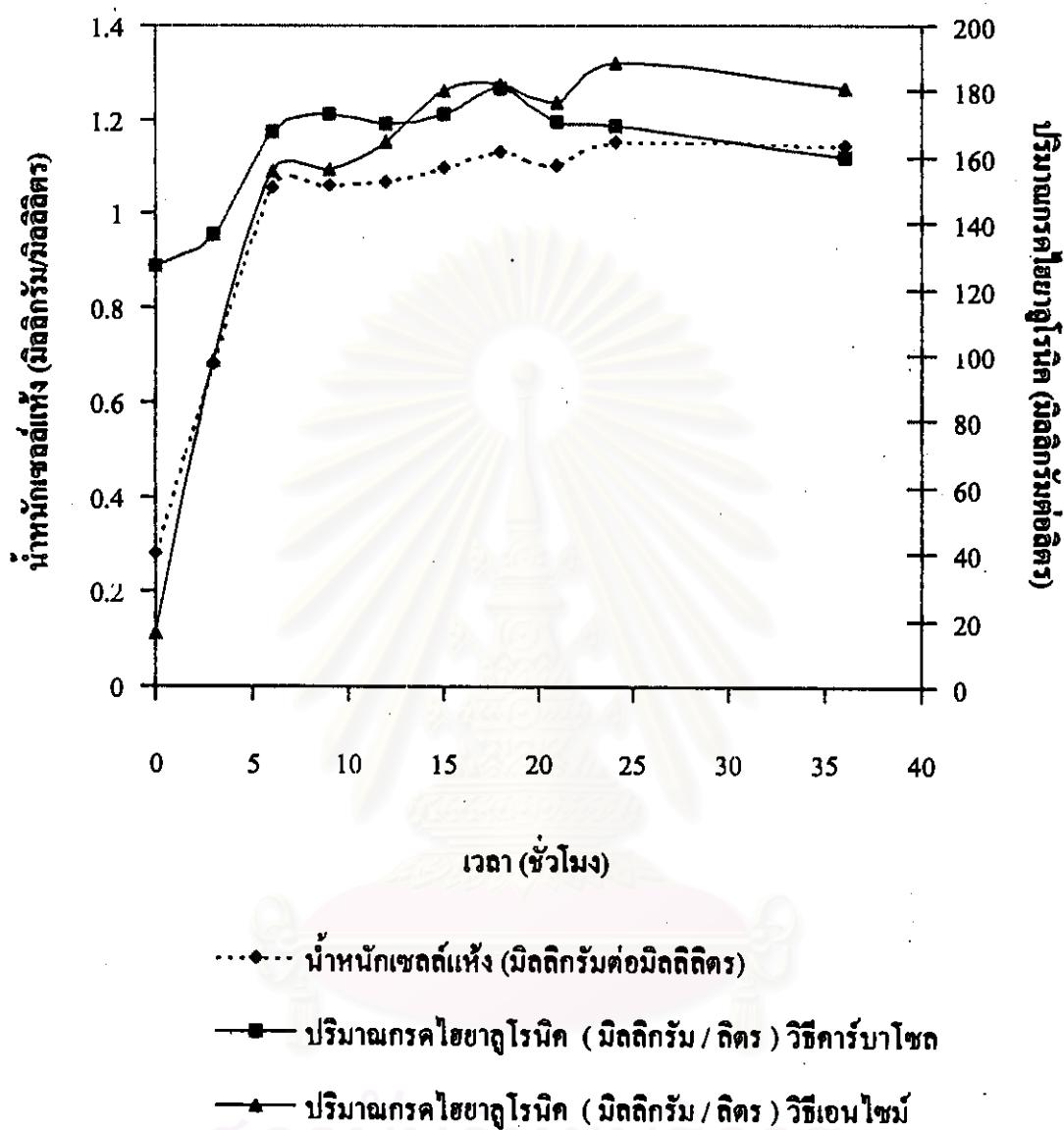


รูปที่ 18 การเจริญ , การผลิตกรดไยยาสูรนิค , ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของอาหารเตียงเชื้อเหกลาเพื่อการผลิตโดยใช้เชื้อตั้งต้น *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ที่เจริญใน TSB , ที่อุณหภูมิห้อง , อัตราเร็วในการเบ่า 200 รอบต่อนาที

3.3 การเจริญและการผลิตกรดไธยา庫โรนิกไซค์ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเดี๋ยงเชื้อเพื่อการผลิตที่ระยะเวลาต่างๆ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพการวิเคราะห์ปริมาณกรดไธยา庫โรนิกระหว่างวิธีการบนาไซด์และวิธีเอนไซม์

เดี๋ยงเชื้อตั้งต้น *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเหลว TSB (ภาคผนวก ก ข้อ 1.2) เป็นเวลา 7 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเดี๋ยงในอาหารเดี๋ยงเชื้อเพื่อการผลิตสูตรปรับปุ่งจาก Nimrod (1986) (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ค่าความเป็นกรด-ค้างเท่ากัน 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง อัตราการเรย์ 200 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดไธยา庫โรนิกที่รายงานโดยยูราวก ศรีวงศ์ (2540) โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 20 เบอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตรอาหารเดี๋ยงเชื้อ) วิเคราะห์ปริมาณกรดไธยา庫โรนิกด้วยวิธีการบนาไซด์และวิธีเอนไซม์ตามวิธีข้อ 2.5.3 และ 2.5.4 ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 19 พบว่า ในช่วงเริ่มต้นของการผลิต ซึ่งปริมาณกรดไธยา庫โรนิกที่ผลิตได้ก่อนข้างต่ำ การวิเคราะห์โดยวิธีการบนาไซด์และวิธีเอนไซม์ตามวิธีไม่ค่อยสัมพันธ์กัน แต่เมื่อเชื้อผลิตกรดไธยา庫โรนิกได้ปริมาณระดับหนึ่งแล้ว การวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีก่อนข้างไปในทิศทางเดียวกัน และเมื่อพิจารณาปริมาณกรดไธยา庫โรนิกที่ผลิตได้โดยวิธีเอนไซม์พบว่า เชื้อสามารถผลิตกรดได้ในปริมาณสูงสุดเท่ากัน 188.85 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ 24 ชั่วโมง และเมื่อเปรียบเทียบกับที่เวลาการผลิตที่ชั่วโมงที่ 18 แล้วพบว่าให้ปริมาณการผลิตไม่แตกต่างจากที่ชั่วโมงที่ 24 คือ 181.95 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกเวลาการผลิตที่ชั่วโมงที่ 18 ในกรณีถูกต้องเพื่อคัดเก็บสารพันธุ์ถูกถ่าย เพื่อคระยะเวลาให้การคัดเก็บสารพันธุ์ถูกถ่าย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19 รูปเป็นการเจริญและการผลิตกรคไชยาคูโรนิกโดย *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 เมื่อเติบโตในอาหารเติบโตเชื้อเพื่อการผลิตที่อุณหภูมิห้อง ค่าความเป็นกรด-ค้างเริ่มต้น 6.8 อัตราการเจริญ 200 รอบต่อนาที

3.4 เปรียบเทียบการเจริญและการพัฒนาระดับ菌群 S. *zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการพัฒนาระดับขวดเบเย่าและในระดับหลอดเบเย่า

เนื่องจากการคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ถูกถ่ายหลังการกดสายพันธุ์จะมีจำนวนเชื้อที่ต้องทดสอบจำนวนมาก ดังนั้นจึงเปรียบเทียบการคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ถูกถ่ายในระดับหลอดทดลองพร้อมการเบเย่าและในระดับขวดเบเย่า โดยเดียว S. *zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหตุผลของการพัฒนาระบบปรับปรุงจาก Nimrod (1986) (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง เชื้อตั้งต้นที่เจริญในอาหาร TSB (ภาคผนวก ก ข้อ 1.2) อายุ 7 ชั่วโมง ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ที่รายงานโดย ฉุราภรณ์ ศรีวงศ์ (2540) ความเป็นกรด-ค้าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง บ่มเบเย่าที่ความเร็วอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เทียบกับการใช้ขวดเบเย่าซึ่งใช้เชื้อ S. *zooepidemicus* ATCC 35246 ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตร/ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ) ในขวดรูปชูปุ่นนาด 250 มิลลิลิตรที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร วิเคราะห์ปริมาณกรดไออกโนนิกด้วยวิธีเอนไซม์ตามวิธี 2.5.4 พนวจ การเจริญของ S. *zooepidemicus* ATCC 35246 ทั้งในระดับขวดเบเย่า และหลอดที่มีการเบเย่า มีการเจริญใกล้เคียงกัน โดยที่การพัฒนาระดับ菌群เพิ่มขึ้นไปพร้อมกับการเจริญโดยการเจริญในระดับขวดเบเย่าจะให้ปริมาณกรดไออกโนนิกสูงกว่าในระดับหลอดเบเย่า แต่ระดับหลอดเบเย่าให้แนวโน้มการพัฒนาไปในทางเดียวกันกับในระดับขวดเบเย่า โดยให้การพัฒนาระดับ菌群สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 เช่นกัน (ตารางที่ 4 , รูปที่ 20)

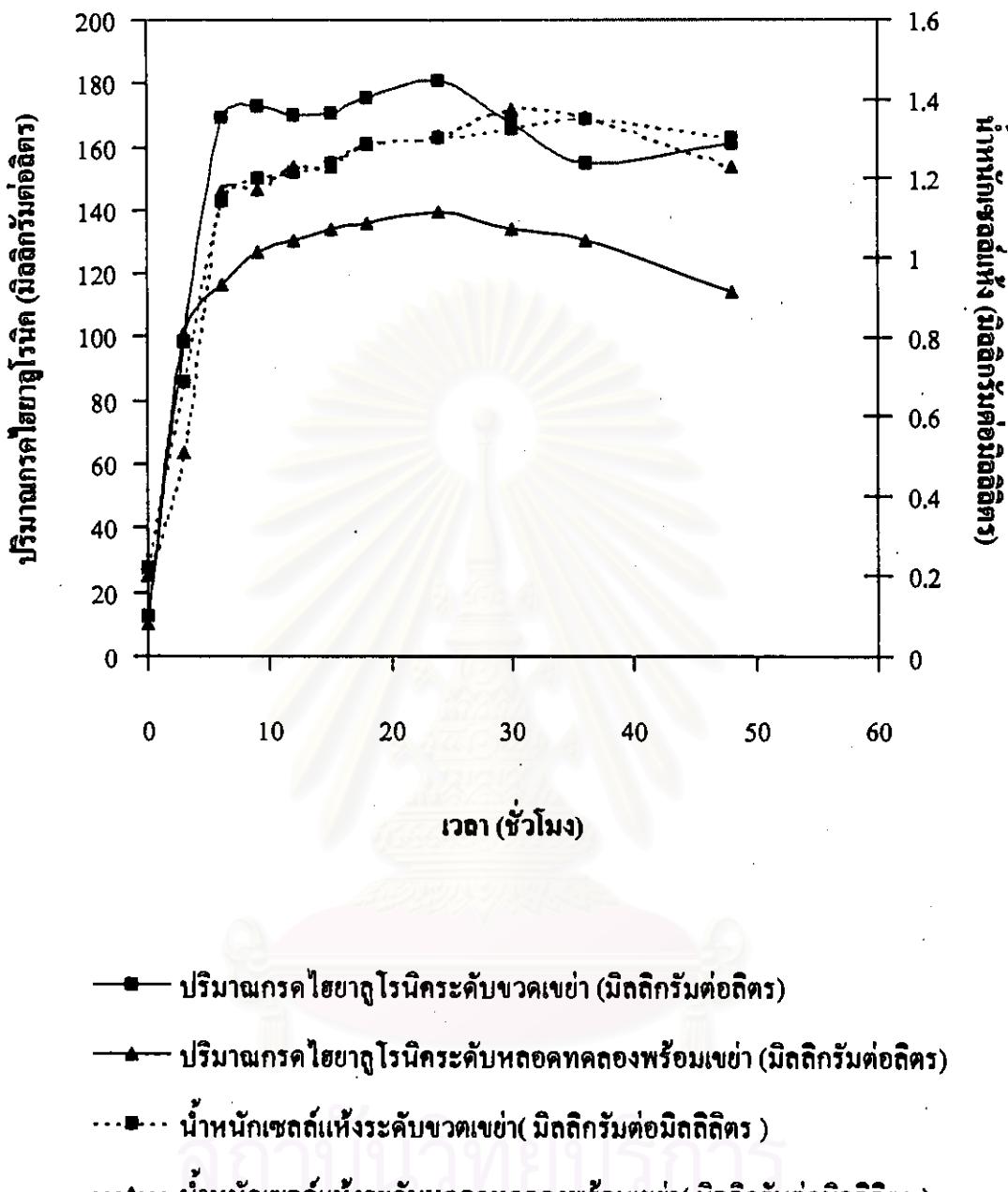
ดังนั้น จึงเลือกใช้การคัดเลือกในระดับหลอดเบเย่าในการคัดเลือกสายพันธุ์ถูกถ่ายเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการศึกษาทดลอง

**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

ตารางที่ 4 การเจริญและการผลิตกรดไขข้าวในนิคโดย *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหาร เตี๊ยงเรือเห็ดเพื่อการผลิตในระดับ恢復เบี่ยงในระดับทดสอบพื้นที่ของพื้นที่ของพื้นที่ 0 ตัวเร็วในการ เบี่ยง 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ปริมาณกรดไขข้าวในนิคด้วยวิธีเอนไซม์

เวลา (ชั่วโมง)	การผลิตระดับ恢復เบี่ยง		การผลิตระดับทดสอบพื้นที่ของพื้นที่	
	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มก./มล)	ปริมาณ HA (มก./ล.)	น้ำหนักเซลล์แห้ง (มก./มล)	ปริมาณ HA (มก./ล.)
0	0.219	12.67	0.203	10.22
3	0.685	98.63	0.510	101.05
6	1.142	169.47	1.167	116.465
9	1.203	172.91	1.174	126.51
12	1.215	170.13	1.232	130.258
15	1.239	170.47	1.230	133.84
18	1.288	175.22	1.288	135.99
24	1.300	180.83	1.305	139.205
30	1.324	167.60	1.373	133.86
36	1.349	154.96	1.354	130.38
48	1.300	161.26	1.232	113.92

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รุปที่ 20 การเจริญและการผลิตกรดไธยากรูโนนิกโดย *R. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตในระดับขาวเข้มและระดับเกลือดทคลดลงพร้อมเข้ม ที่อุณหภูมิห้อง ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 6.8 ,อัตราเร็วในการเข้ม 200 รอบต่อนาที วิเคราะห์ปริมาณการเจริญไธยากรูโนนิกด้วยวิธีเอนไซม์

3.5 เปรียบเทียบการหาปริมาณกรดไฮยาตูรอนิก โดยวิธีการ์บนาใช้กากยหลังการตัดกระgonด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล และ 1 เปอร์เซ็นต์ CPC

เนื่องจากในการวิเคราะห์กรดไฮยาตูรอนิกจากน้ำนมักเพื่อการคัดเลือกสายพันธุ์ถูกตายชั่งมีจำนวนมาก การใช้วิธีเอนไซม์ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดไฮยาตูรอนิก ต้องใช้วิธีเอนไซม์จำนวนมากและมีราคาแพง เพื่อเป็นการประหยัดเงินทำการทดสอบหาปริมาณกรดไฮยาตูรอนิกโดยวิธีของ Bitter และ Muir (1962) ซึ่งใช้ปฏิกิริยาการวิเคราะห์กรดไฮยาตูรอนิกด้วยการ์บนาใช้ถ่านหินที่ได้มีการรับกวนจากสิ่งปฏิกิริยานี้ ทำให้ไม่สามารถนำมาเป็นตัวอย่างในการวิเคราะห์ได้โดยตรงจึงต้องทำบริสุทธิ์กรดไฮยาตูรอนิกในระดับหนึ่งด้วยวิธีตัดกระgonด้วย 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล (Kim et al. , 1996) อัตราส่วน 95 เปอร์เซ็นต์ เอทานอล : น้ำนมัก เป็น 2 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เปรียบเทียบกับการตัดกระgonด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ ซีทิวไฟริค เนียมคอลอไรด์ (CPC) (คัดแปลงจาก Holmstrom และ Ricica , 1967) ในอัตราส่วน 1 เปอร์เซ็นต์ CPC : น้ำนมัก เป็น 1 : 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ให้ผลดังตารางที่ 5

**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**

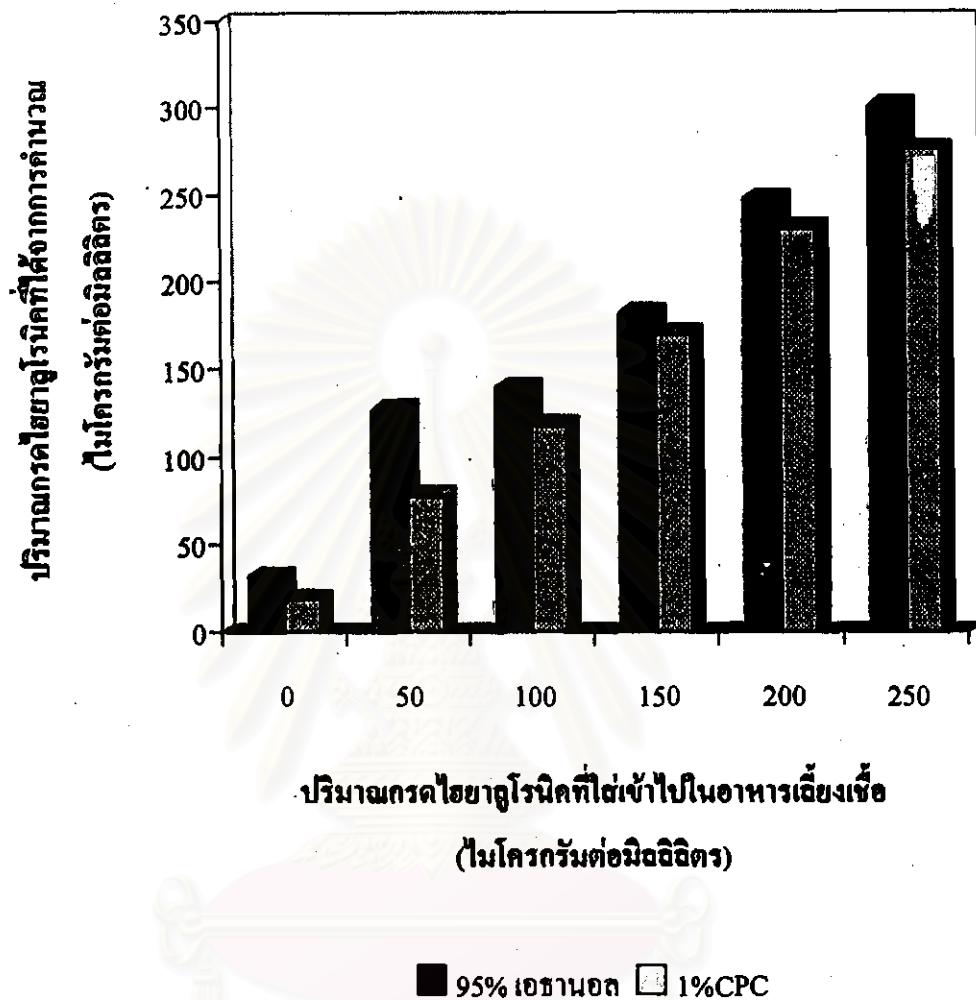
ตารางที่ 5 เปรียบเทียบปริมาณการโฆษณาในนิกที่ตกลงต่อไปนี้

การวิเคราะห์ด้วยวิธีการบานาชา

ความเข้มข้นของ HA บริสุทธิ์ ในอาหารเสียงซึ่อเพื่อการผลิต (ไม่รวมรับต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณ HA หลังตกลงต่อไปนี้ ด้วย 95% เอชานอต (ไม่รวมรับต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณ HA หลังตกลงต่อไปนี้ ด้วย 1% CPC (ไม่รวมรับต่อมิลลิลิตร)
0	32.23	19.04
50	127.33	77.60
100	139.73	117.98
150	181.88	169.81
200	247.15	230.00
250	300.94	275.96

จากผลการทดลองพบว่า ในอาหารเสียงซึ่อเพื่อการผลิตที่ไม่มีการเติมการโฆษณาในนิกเมื่อตรวจหาโดยวิธีนี้ได้ค่าบวกเทิบมเกิดขึ้นซึ่งอาจถือได้ว่าเป็นค่า background ดังนั้นในการปรับค่าที่แท้จริงจากค่าที่ดัดได้จึงนำปริมาณกรดที่ได้จาก 2 วิธีนี้น หักค่าการดูในนิก background แล้วจะเปรียบเทียบประสิทธิภาพพบว่าการตกลงต่อไปนี้ด้วย 1% CPC ให้ค่าที่ใกล้เคียงกับวิธีการตกลงต่อไปนี้ด้วย 95% เอชานอตแต่อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่าง 2 วิธี ดังนั้นจึงเลือกใช้วิธีการตกลงต่อไปนี้ด้วย 95% เอชานอตเพื่อลดต้นทุนในการทดลอง (รูปที่ 21)

ผลการเปรียบเทียบ
จุดหลังการรับประทาน



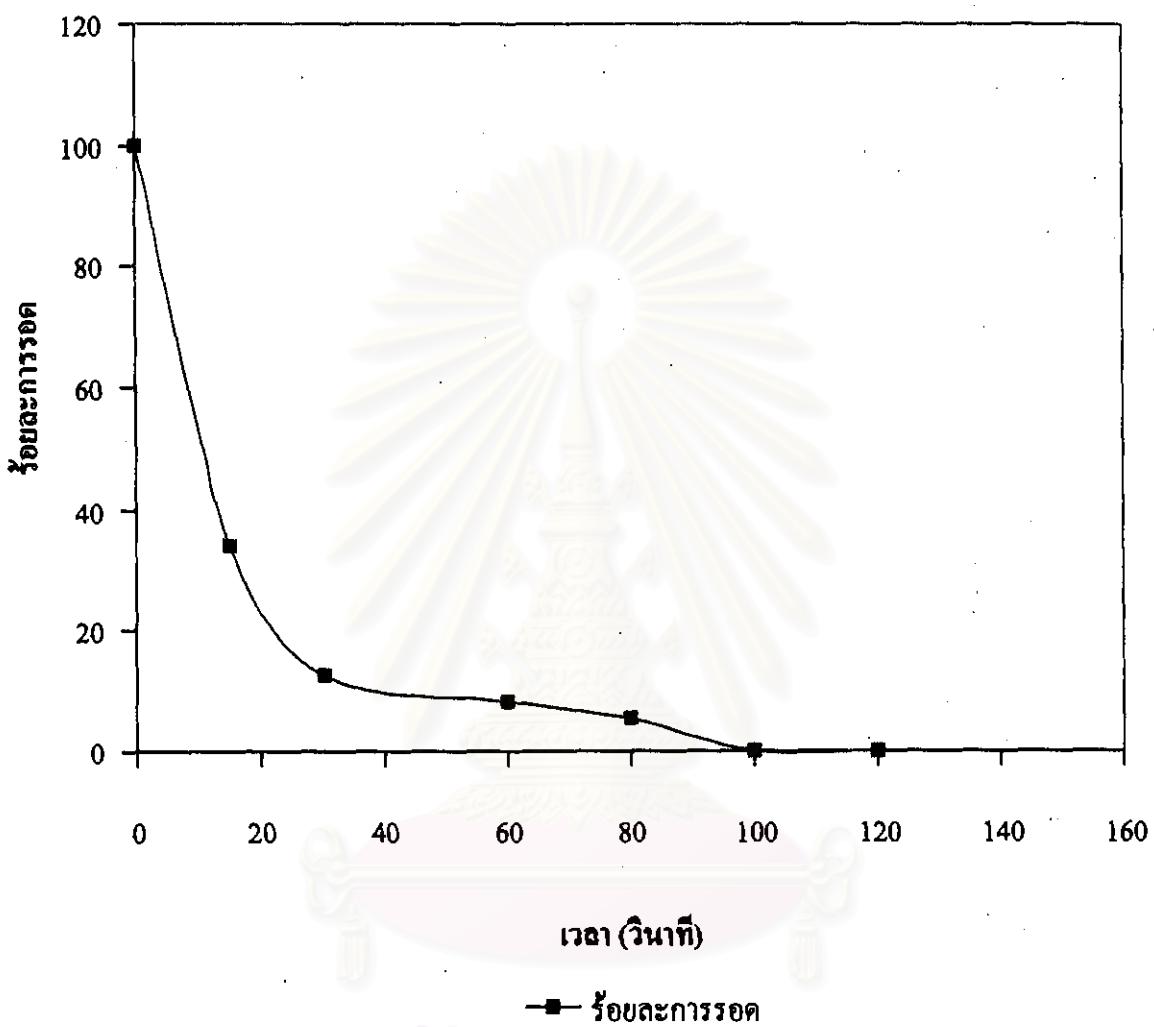
รุ่นที่ 21 ปริมาณกรดไอกาโซรินิกที่เดินทางในอาหารเลี้ยงเรือแก้วสีงดกตะกอนกรดไอกาโซรินิกด้วย 95% เอชานอต และ 1% CPC โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธีการบนาไฮด์

**3.6 การรักน้ำให้เกิดการก่อตายพันธุ์ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต
รุ่นที่ 1**

ทำการรักน้ำการก่อตายพันธุ์ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ด้วยการฉายแสง อัลตราไวโอเลตที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยใช้หัวเชื้อตั้งต้นอายุ 7 ชั่วโมง ซึ่งอยู่ในช่วงกึ่ง กลางการเจริญทวีคูณ (mid log phase) และดำเนินการก่อตายพันธุ์ตามวิธีในบทที่ 2 ข้อ 3 จากนั้นนำ เชื้อที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต มาบ่มเติบโตในที่มีค ดูษหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง นับจำนวนไคโกลนที่เจริญ (ไคโกลนที่รอด) และคำนวณร้อยละการรอด ได้ผลดังแสดงใน ตารางที่ 6 และรูปที่ 22 ทำการตัดเดือกไคโกลนที่มีขนาดใหญ่ ที่มีลักษณะเมื่อกnak ในช่วงที่มีร้อยละการรอด 0.1-5.0 ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการก่อตายพันธุ์ที่เหมาะสม (Miller, 1972; Fantini, 1975; Carlton and Brown, 1981) ซึ่งตรงกับผลที่ได้จากการฉายแสงอัลตราไวโอเลตนาน 80-120 วินาที โดยให้ร้อยละการรอด 5.38-0.07

ตารางที่ 6 จำนวนไคโกลนที่เจริญ(ไคโกลนที่รอด) และร้อยละการรอดของ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 ภายหลังจากการฉายแสงอัลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 254 นาโน เมตร ที่เวลาต่างๆ

เวลา (วินาที)	จำนวนไคโกลนที่เจริญจากการเพาะเติบโต (เซลล์ต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการรอด
0	1.60×10^8	100
15	5.45×10^7	34.06
30	2.02×10^7	12.63
60	1.29×10^6	8.06
80	8.60×10^6	5.38
100	2.70×10^5	0.17
120	1.10×10^5	0.07



รูปที่ 22 ร้อยละการลดของ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ที่ผ่านการฆ่าเชิงอัลตราไวโอดเจต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ที่เวลาต่างๆ

3.6.1 การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ของ *S.zooepidemicus* ATCC 35246 ที่สามารถผลิตกรดไอกยาสูโรนิกได้สูง

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ถูกถ่ายที่มีการผลิตกรดไอกยาสูโรนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมภูมิและทุดิยภูมิ

เมื่อนำเชื้อที่ผ่านการถ่ายແแทงอัลตราไวโอลेटในช่วงเวลา 80-120 วินาที มาทำการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยการฉุบตักขยะโคไกโคนีที่มีบนภาชนะหอย และมีเมือกมาก หลังจากนั้นเป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ได้เชื้อที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิทั้งหมด 244 โคไกโคนี ถูมเตือกโคไกโคนี จำนวน 60 โคไกโคนี นำคัดเลือกในขั้นทุดิยภูมิต่อไป โดยนำมาเตี๊ยในอาหารเดึงเชือเหตัว (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ได้เชื้อสายพันธุ์ถูกถ่าย 3 สายพันธุ์ที่มีการผลิตกรดไอกยาสูโรนิกได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณกรดไอกยาสูโรนิกในอาหารเหตัวเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ตั้งต้น *S.zooepidemicus* ATCC 35246 กับสายพันธุ์ถูกถ่ายที่ผ่านการถ่ายແแทงอัลตราไวโอลेट 1 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกยาสูโรนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไอกยาสูโรนิก
AU21	275.32	52.76
AU72	248.50	37.88
AU7	242.16	34.36
ATCC35246	180.23	

3.6.2 การทดสอบความแตกต่างในการผลิตกรดไอกยาสูโรนิกของสายพันธุ์ถูกถ่าย

เมื่อนำสายพันธุ์ถูกถ่ายทั้ง 3 ที่ผ่านการทดสอบขั้นทุดิยภูมิ ตามการทดสอบในข้อ 4.2 มาเตี๊ยในอาหารเหตัวเพื่อการผลิตอีกครั้ง หลังจากมีการถ่ายเชื้อไป 5 ครั้ง โดยทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบขั้นทุดิยภูมิ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น ปริมาณกรดไอกยาสูโรนิกที่ผลิตได้แสดงไว้ในตารางที่ 8

**ตารางที่ 8 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกา幽โวนิกของสายพันธุ์ กล่ายที่ผ่านการฆาต
แสงอัลตราไวโอเลต 1 รอบ**

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกา幽โวนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกา幽โวนิกหลังจากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกา幽โวนิกที่ลดลงเมื่อเทียบ กับก่อนการถ่ายเชื้อ
AU21	275.32	203.13	26.22
AU72	248.50	202.31	18.59
AU7	242.16	184.84	23.67
ATCC 35246	180.23		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกา幽โวนิกในขั้นต้น

พบว่า *S. zooepidemicus* สายพันธุ์กล่ายที่ได้ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไอกา幽โวนิก ลดลงจากก่อนการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง โดยสายพันธุ์ AU 21 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้ว ผลิตกรดไอกา幽โวนิกลดลงจากก่อนการถ่ายเชื้อคิดเป็นร้อยละ 26.22 ขณะที่ AU 72 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้ว ผลิตกรดไอกา幽โวนิกลดลงร้อยละ 18.59 และสายพันธุ์ AU 7 ผลิตกรดไอกา幽โวนิกลดลงร้อยละ 23.67 และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณการผลิตกรดไอกา幽โวนิกหลังการถ่ายเชื้อ 5 ครั้งของสายพันธุ์กล่าย 3 สายพันธุ์ยังคงสูงกว่าสายพันธุ์ตึ้งต้น ATCC 35246 โดย สายพันธุ์ AU 21 , AU 72 และ AU 7 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้วซึ่งสามารถผลิตกรดไอกา幽โวนิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตึ้งต้นคิดเป็นร้อยละ 12.71 12.25 และ 2.56 ตามลำดับ

ดังนั้น จึงเลือกสายพันธุ์ AU 21 ไปทำการกล่ายพันธุ์ต่อไป เพื่อให้ได้สายพันธุ์กล่ายที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดไอกา幽โวนิกได้มากขึ้น

3.7 การขักนำให้เกิดการกล่ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต รอบที่ 2

นำ *S. zooepidemicus* AU21 ซึ่งกล่ายพันธุ์มาจาก *S. zooepidemicus* ATCC 35246 โดยการฆาตแสงอัลตราไวโอเลตและผลิตกรดไอกา幽โวนิกได้สูงสุด 203.13 มิลลิกรัมต่อลิตร มากกว่าสายพันธุ์ซึ่งได้รับการฆาตแสงอัลตราไวโอเลตนาน 60-120 วินาที ซึ่งให้อัตราการลดร้อยละ 4.0-0.02 (ภาคผนวก ก) นำเชื้อที่ผ่านการฆาตแสงอัลตราไวโอเลตมาเตี้ยงในอาหารเดี้ยงเชื้อแข็ง TSA (ภาคผนวก ก ข้อ 3) บ่มในที่มีดีเป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง และทำการคัดเลือกสายพันธุ์กล่ายขั้นปฐมนิเทศขั้นทุติยภูมิเช่นเดียวกันกับการกล่ายพันธุ์สายพันธุ์ตึ้งต้น

3.7.1 การคัดเลือกเชื้อที่ได้จากการถ่ายพันธุ์ *S. zooepidemicus* AU21 ที่สามารถผลิตกรดไชยากรูโรนิกได้สูง โดยการถ่ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต รอบที่ 2

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์กลาบที่มีการผลิตกรดไชยากรูโรนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมนิเทศทุติยภูมิ

หลังการถ่ายแสงอัลตราไวโอเลตต่อเชื้อ *S. zooepidemicus* สายพันธุ์ AU21 ที่ได้จากการถ่ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลตรอบแรก เป็นเวลา 60-120 วินาที ที่ทำการคัดเลือกขั้นปฐมนิเทศ โดยการคุณภาพของโคลนนี้ที่มีขนาดใหญ่ และมีเม็ดมาก หลังจากบ่มเป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ได้เชื้อที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมนิเทศทั้งหมด 470 โคลนนี โดยขึ้นด้วยตามลักษณะโคลนนี้ที่มีขนาดใหญ่ และมีเม็ดมากและถูกเหลืองโคลนนิมา 60 โคลนนี เพื่อคัดเลือกในขั้นทุติยภูมิ ซึ่งทำโดยการเติบโตในอาหารเติบโตเชิงเหตุ (ภาชนะ ก) ได้เชื้อสายพันธุ์กลาบ 11 สายพันธุ์ที่มีการผลิตกรดไชยากรูโรนิกมากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบปริมาณกรดไชยากรูโรนิกในอาหารเหตุเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ตั้งต้น *S. zooepidemicus* AU 21 กับสายพันธุ์กลาบที่ผ่านการถ่ายแสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไชยากรูโรนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไชยากรูโรนิก
BU42	312.04	59.43
BU38	299.88	53.22
BU125	284.03	45.12
BU11	281.37	43.76
BU56	277.38	41.72
BU94	274.88	40.45
BU3	272.34	39.15
BU62	268.63	37.25
BU14	243.06	24.19
BU25	225.69	15.31
BU87	212.96	8.81
AU21	195.72	

หมายเหตุ : สายพันธุ์ตั้งต้น คือสายพันธุ์ AU 21

3.7.2 การทดสอบความเสี่ยงในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์กذاข

เมื่อนำสายพันธุ์กذاขทั้ง 4 ที่ผ่านการทดสอบขั้นทุติยภูมิ ตามการทดสอบในข้อ 4.2 มาเตี๊ยง ในอาหารเหตุเพื่อตรวจการผลิตกรดไอกาڑูโนนิก หลังการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตัวต้น แสดงดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การทดสอบความเสี่ยงในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์ กذاขที่ผ่านการฉาบ แสงอัลตราไวโอเลต 2 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกหลัง จากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาڑูโนนิกที่ลดลงเมื่อเทียบกับ ก่อนการถ่ายเชื้อ
BU42	312.04	277.94	10.93
BU38	299.88	246.64	17.75
BU125	284.03	199.99	10.42
BU11	281.37	207.90	26.11
AU21	195.72		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกในขั้นต้น

พบว่า *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กذاขที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์มีการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกลดลง มากกว่าก่อนการถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้ง โดยสายพันธุ์ BU 42 , BU 38 , BU 125 และ BU11 หลังจากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้งผลิตกรดไอกาڑูโนนิกลดลงจากก่อนการถ่ายเชื้อ คิดเป็นร้อยละ 10.93 , 17.75 , 10.42 และ 26.11 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามหลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้ง *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กذاขที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ คือ BU 42 , BU 38 , BU 125 และ BU11 ยังสามารถผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตัวต้น AU21 คิดเป็นร้อยละ 42.01 , 26.02 , 2.18 และ 6.22 ตามลำดับ

ดังนั้น จึงเลือกสายพันธุ์ BU42 ไปทำการถ่ายพันธุ์ต่อไป เพื่อให้ได้สายพันธุ์กذاขที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้มากขึ้น

3.8 การซักนำให้เกิดการกระจายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต รอบที่ 3

นำ *S. zooepidemicus* BU 42 ซึ่งถูกพันธุ์มาจาก *S. zooepidemicus* AU 21 โดยการฉายแสงอัลตราไวโอเลตและผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้สูงสุด 312.04 มิลลิกรัมต่อลิตร มากถูกพันธุ์ซ้ำด้วยการฉายแสงอัลตราไวโอเลตนาน 15-120 วินาทีซึ่งให้อัตราการลดร้อยละ 2.81-0.06 (ภาคผนวก ก) นำเชื้อที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลตมาเดี่ยงในอาหารเดี่ยงเชื้อแข็ง TSA บ่มในที่มีค่าเป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง และทำการคัดเลือกถ่ายพันธุ์ถูกถ่ายขึ้นปูนญี่ปุ่นทุติยภูมิและเข้าสู่ห้องเย็นเดียวกันกับการถ่ายพันธุ์ถ่ายพันธุ์ตั้งต้น

3.8.1 การคัดเลือกเชื้อถ่ายพันธุ์ของ *S. zooepidemicus* BU42 ที่สามารถผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้สูง หลังการถ่ายพันธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลตรอบที่ 3

การคัดเลือกเชื้อถ่ายพันธุ์ถูกถ่ายที่มีการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปูนญี่ปุ่นทุติยภูมิ

หลังการถ่ายพันธุ์ถ่ายพันธุ์ BU42 ซึ่งเป็นถ่ายพันธุ์ถูกถ่ายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต มาสองครั้ง เพิ่มด้วยแสงอัลตราไวโอเลตครั้งที่สามเป็นเวลา 15-120 วินาที ที่ทำการคัดเลือกขึ้นปูนญี่ปุ่น ซึ่งคัดเลือกเชื้อได้ทั้งสิ้น 187 โคไกนิ แต่ส่วน渺ฯ 60 โคไกนิมาทำการคัดเลือกขึ้นทุติยภูมิต่อไปตามวิธี หลังการคัดเลือกปูนญี่ปุ่นถ่ายพันธุ์ถูกถ่าย 4 ถ่ายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตกรดไอกาڑูโนนิกสูง ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกในอาหารเหลวเพื่อการผลิตของถ่ายพันธุ์ตั้งต้น *S. zooepidemicus* BU42 กับถ่ายพันธุ์ถูกถ่ายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบ

ถ่ายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไอกาڑูโนนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไอกาڑูโนนิก
CU47	370.13	37.86
CU69	343.83	28.07
CU75	327.81	22.10
CU86	307.81	14.65
BU42	268.48	

หมายเหตุ : ถ่ายพันธุ์ตั้งต้น คือถ่ายพันธุ์ BU42

3.8.2 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์กากาย

นำสายพันธุ์กากายทั้ง 4 สายพันธุ์มาทดสอบความเสถียร ทำการทดสอบตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 4.2 โดยเลือกเชื้อในอาหารเหตุเพื่อวิเคราะห์การผลิตกรดไอกาڑูโนนิกเบรเยนเทียบกับสายพันธุ์ตัวต้น ตารางที่ 12

ตารางที่ 12 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์กากายที่ผ่านการฉายแสงอัตตราไวโอดีต 3 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกหลังจากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาڑูโนนิกที่ลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการถ่ายเชื้อ
CU47	370.13	292.99	20.84
CU69	343.83	283.02	17.69
CU75	327.81	230.19	29.78
CU86	307.81	263.68	14.34
BU42	268.48		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกในขั้นต้น

พบว่า *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กากายที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกคลื่นอย่างทั้ง 4 สายพันธุ์ เมื่อเทียบกับผลผลิตตอนแรกในตารางที่ 11 สายพันธุ์กากายทั้ง 4 สายพันธุ์ หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้ว มีสายพันธุ์ CU 47 และ CU 69 ที่ยังสามารถผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตัวต้น BU42 กิดเป็นร้อยละ 9.13 และ 5.42 ขณะที่ CU75 และ CU 86 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้วพบว่าสามารถผลิตกรดไอกาڑูโนนิกต่ำกว่าสายพันธุ์ตัวต้น BU42

แต่เมื่อเปรียบเทียบการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกก่อนการถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งของสายพันธุ์ กากายทั้ง 4 พบว่า ผลิตกรดไอกาڑูโนนิกลดลงจากก่อนการถ่ายเชื้อ กิดเป็นร้อยละ 20.84 , 17.69 , 29.78 และ 14.34 ตามลำดับของสายพันธุ์ CU 47 , CU 69 , CU 75 และ CU 86 ตามลำดับ

ดังนั้นจึงนำ CU47 ไปทำการถ่ายพันธุ์ต่อไป เพื่อให้ได้สายพันธุ์กากายที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกได้มากขึ้น

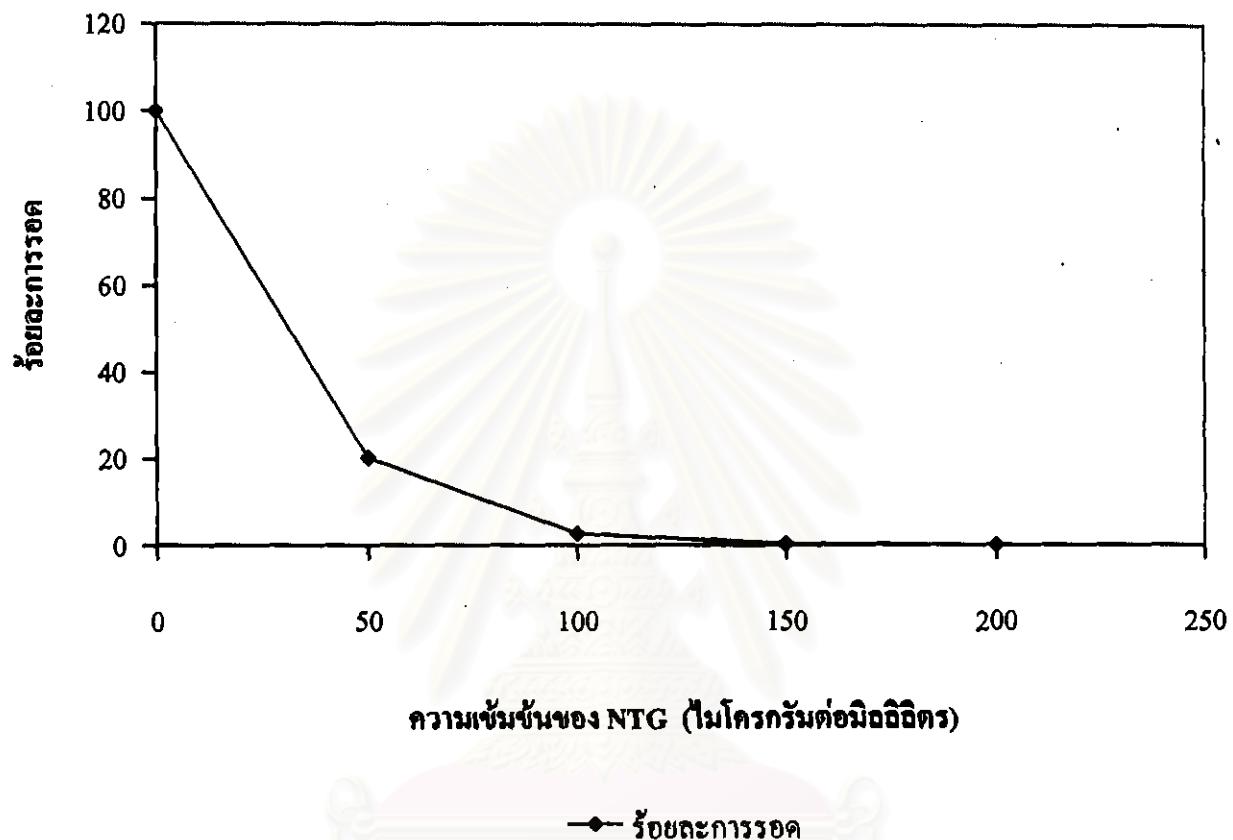
3.9 การหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ NTG ในการกำจัดพืช *S.zooepidemicus* CU 47

สืบเนื่องจากผลที่พบว่าการกำจัดพืชด้วยแสงอัลตราไวโอเลตในทั้งสามรอบที่ผ่านมา สายพันธุ์กลากไห์ผลผลิตคราบไขยากรูโนนิกในปริมาณที่ไม่คงที่ ซึ่งมักพบในการกำจัดพืชด้วยแสงอัลตราไวโอเลต การทดสอบต่อไปจึงทำการกำจัดพืชเชื้อที่คัดเลือกโดยใช้สาร NTG แล้วคัดเลือกสายพันธุ์กลากไห์ให้ผลผลิตคราบสูงซึ่งทำได้ นำเชื้อ *S. zooepidemicus* CU47 ที่ผลิตคราบไขยากรูโนนิกได้สูงสุด กิโล 292.99 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร มาทดลอง มากลายพันธุ์ต่อด้วยสารเคมี NTG โดยแบ่งผู้ความเข้มข้นตั้งแต่ 50 - 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในทริส มาลิอิก บัฟเฟอร์ ค่าความเป็นกรด-ด่าง 6.0 ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากการกำจัดพืช นำเชื้อบริ่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง นับจำนวนโคโอลนิที่เจริญ (โคโอลนิท์รอด) แตะค่าน้ำผึ้งร้อยละการลดได้ผล ดังตารางที่ 13 และรูปที่ 23

ตารางที่ 13 จำนวนโคโอลนิที่เจริญ (โคโอลนิท์รอด) และร้อยละการลดของ *S.zooepidemicus* CU 47 ภายหลังการกำจัดพืชด้วย NTG 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ความเข้มข้น NTG (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	จำนวนโคโอลนิที่เจริญจากงานเพาะเดี่ยงเชื้อ ¹ (เชลล์ต่อ มิลลิลิตร)	ร้อยละการลด
0	56.50×10^7	100
50	11.40×10^7	20.18
100	15.30×10^6	2.71
150	17.50×10^5	0.31
200	22.60×10^4	0.04

พบว่า เมื่อความเข้มข้นของ NTG เพิ่มขึ้น ทำให้ร้อยละการลดลดลงตามลำดับ แตะเนื่องจากการกำจัดพืชด้วย NTG นั้น ภาวะที่การกำจัดพืชที่ให้ร้อยละการลดอยู่ในช่วงร้อยละ 0 - 50 เป็นช่วงที่ทำให้เกิดการกำจัดพืชที่ดีที่สุด (Miller, 1972) ดังนั้น จึงเลือกใช้ความเข้มข้น NTG 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และจึงแบ่งเวลาในการที่เชื้อสัมผัสถกับ NTG ที่จะให้ประสิทธิภาพการกำจัดพืชที่ดีที่สุดต่อไป



รูปที่ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการรอดของเชื้อ *S. zooepidemicus* CU47 หลังการนึ่งร่วมกับสาร NTG ที่ความเข้มข้นระหว่าง 50 - 200 ไมโครกรัมต่อลิตรติดต่อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

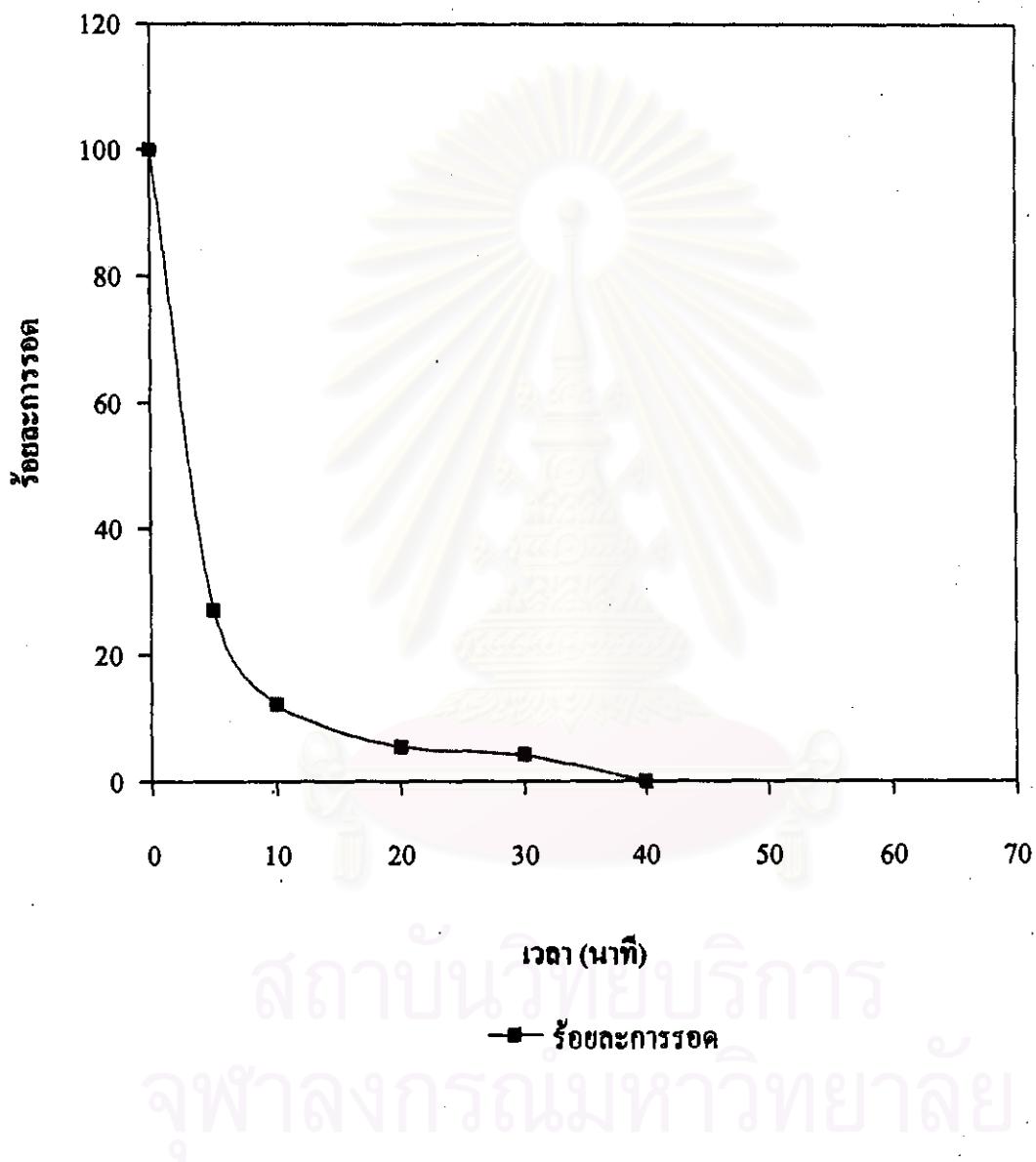
3.10 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการกรดพันธุ์ *S. zooepidemicus* CU 47 ด้วย NTG
รอบที่ 1

ในการคัดเลือกภาวะการกรดพันธุ์ *S. zooepidemicus* CU 47 ด้วย NTG เพื่อให้อัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วงระหว่าง 0 - 50 เปอร์เซ็นต์นั้น พบร้าหากราช NTG คงที่ที่ 50 ในไครกรั่นต่อ มิลลิตร แล้วบ่มเชื้อในช่วง 5 - 40 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียส จะให้อัตราการรอดของเชื้ออยู่ในช่วง 27.05-0.025 ซึ่งอยู่ในขอบเขตที่ต้องการ ดังผลที่แสดงในตารางที่ 14 และรูปที่ 24

ตารางที่ 14 จำนวนไกโตกนีที่เจริญ(ไกโตกนีที่รอด) และร้อยละการรอดของ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 ภายหลังการกรดพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ความเข้มข้น 50 ในไครกรั่นต่อ มิลลิตร ที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	จำนวนไกโตกนีเฉลี่ยจากงานเพาะเลี้ยงเชื้อ (เชลต์ต่อ มิลลิตร)	ร้อยละการรอด
0	6.10×10^7	100
5	1.65×10^7	27.05
10	7.50×10^6	12.30
20	3.38×10^6	5.54
30	2.47×10^6	4.05
40	1.50×10^4	0.025

สถาบันวทยบรการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 24 ร้อยละการลดของ *Staphylococcus aureus* CU 47 ที่กลาบพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ความเข้มข้น 50 ไม่ไกรกรัมต่้อมิลลิลิตร ที่เวลาต่างๆ

3.10.1 การคัดเลือกเชื้อที่สร้างกรดไนยาถูโรนิคหลังการกรลพัพนธุ์ *S.zooepidemicus* CU47 ด้วย NTG

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ถูกถ่ายที่มีการผลิตกรดไนยาถูโรนิคเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ

หลังการกรลพัพนธุ์ด้วยสาร NTG ต่อ *S. zooepidemicus* สายพันธุ์ CU47 ที่ผ่านการกรลพัพนธุ์ด้วยแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบ หลังจากคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยการคุณภาพไคลโนนิที่มีขนาดใหญ่ และมีเม็ดมาก หลังจากนั้นเป็นเวลา 24-36 ชั่วโมง ได้เชื้อที่ผ่านการคัดเลือกดังกล่าวทั้งหมด 120 โภคไนน์ จากนั้นพัคเดือกต่อในขั้นทุติยภูมิ โดยนำมาตีบีงในอาหารเดียวกับเชื้อเหตุ (ภาคผนวก ก ข้อ 2) ได้เชื้อสายพันธุ์ถูกถ่าย มีการผลิตกรดไนยาถูโรนิคมากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น CU47 ดังแสดงในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 เปรียบเทียบปริมาณกรดไนยาถูโรนิคในอาหารเหตุเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ตั้งต้น *S. zooepidemicus* CU 47 กับสายพันธุ์ถูกถ่ายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบ และซักนำด้วย NTG 1 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไนยาถูโรนิค (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มของกรดไนยาถูโรนิค
CUN 20	351.42	32.37
CUN 37	320.40	20.68
CUN 16	318.39	19.93
CUN 83	311.32	17.26
CU47	265.49	

หมายเหตุ : สายพันธุ์ตั้งต้นคือ สายพันธุ์ CU 47

3.10.2 การทดสอบความสำคัญในการผลิตกรดไนยาถูโรนิคของสายพันธุ์ถูกถ่าย

นำสายพันธุ์ถูกถ่ายทั้ง 4 ที่ผ่านการทดสอบขั้นทุติยภูมิ ตามการทดสอบในข้อ 4.2 มาเตียงในอาหารเหตุเพื่อการผลิตอิกกรัง หลังจากมีการถ่ายเชื้อไป-5 กรัง โดยทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบขั้นทุติยภูมิ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น วัดปริมาณกรดไนยาถูโรนิคที่ผลิตได้ดังตารางที่ 16

ตารางที่ 16 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาڑูโรนิกของสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ได้หลังการซักน้ำโดย NTG

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาڑูโรนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกาڑูโรนิก หลังจากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาڑูโรนิกเมื่อเทียบกับก่อนการถ่ายเชื้อ
CUN 20	351.42	300.32	-14.54
CUN 37	320.40	323.09	+0.84
CUN 16	318.39	304.99	-4.21
CUN 83	311.32	261.32	-16.06
CU47	292.99		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกาڑูโรนิกในขั้นต้น , + หมายถึง เพิ่มขึ้น , - หมายถึง ลดลง

พบว่า เชื้อ *S. zooepidemicus* สายพันธุ์กذاวยที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไอกาڑูโรนิกลดลงทั้ง 4 สายพันธุ์ เต็มทั้ง 4 สายพันธุ์ แต่ยังคงให้ผลผลิตที่สูงกว่าสายพันธุ์ตึ้งดัน CU47 คือ 300.32 , 323.09 และ 304.99 มิลลิกรัมต่อลิตรสำหรับสายพันธุ์ CUN 20 , CUN 37 และ CUN 16 ตามลำดับ

ดังนั้น จึงเลือกสายพันธุ์ CUN20 ไปทำการถ่ายพันธุ์ต่อตัว NTG โดยใช้ภาวะการถ่ายพันธุ์ เช่นเดียวกับกับการถ่ายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ในรอบแรก เพื่อกระตุ้นความสามารถในการผลิตกรดไอกาڑูโรนิกเพิ่มมากขึ้น

3.11 การคัดเลือกเชื้อที่สร้างกรดไอกาڑูโรนิกหนึ่งการถ่ายพันธุ์ *S. zooepidemicus* CUN 20 ด้วย NTG รอบที่ 2

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์กذاวยที่มีการผลิตกรดไอกาڑูโรนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ

เมื่อนำเชื้อที่ผ่านการถ่ายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG รอบที่ 2 มาทำการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ และขั้นทุติยภูมิเช่นเดียวกับกับการทดสอบที่ผ่านมา โดยคัดเลือกจากเชื้อที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 65 โภตินี และหลังจากการผ่านการคัดเลือกขั้นทุติยภูมิแล้ว โดยได้เชื้อสายพันธุ์กذاวยที่ผลิตกรดไอกาڑูโรนิกมากกว่าสายพันธุ์ตึ้งดัน CUN 20 ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบปริมาณกรดไอกาลูโวนิกในอาหารเหلوเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ดังต้น *S. zooepidemicus* CUN 20 กับสายพันธุ์สกัดถั่วที่ผ่านการฆ่าแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบ และ ชักนำด้วย NTG 2 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไอกาลูโวนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไอกาลูโวนิก
CUN2-1	318.87	6.82
CUN2-5	282.08	-5.50
CUN2-9	277.36	-7.09
CUN2-16	268.40	-10.09
CUN 20	298.51	

หมายเหตุ : สายพันธุ์ดังต้น คือ สายพันธุ์ CUN 20

3.11.1 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาลูโวนิกของสายพันธุ์สกัดถั่ว

เมื่อนำสายพันธุ์สกัดถั่วทั้ง 4 สายพันธุ์ มาเลี้ยงในอาหารเหلوเพื่อการผลิต หลังจากมีการถ่ายเชื้อไป 5 ครั้งเพื่อทดสอบความเสถียร โดยทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบขั้นทุติบภูมิ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดังต้น วัดปริมาณกรดไอกาลูโวนิกที่ผลิตได้ดังตารางที่ 18

ตารางที่ 18 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาลูโวนิกของสายพันธุ์สกัดถั่วต่าง ๆ ที่ได้หลังการชักนำโดย NTG 2 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาลูโวนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ*	ปริมาณกรดไอกาลูโวนิก หลังจากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาลูโวนิก เมื่อเทียบกับก่อนการถ่ายเชื้อ
CUN2-1	318.87	310.08	-2.76
CUN2-5	282.08	273.11	-3.78
CUN2-9	277.36	283.49	+2.21
CUN2-16	268.40	257.75	-3.97
CUN20	298.51		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากการวัดปริมาณกรดไอกาลูโวนิกในขั้นต้น , + หมายถึง เพิ่มขึ้น , - หมายถึง ลดลง

พบว่าเชื้อ *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กวางที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไชยาถูโรนิกลดลงทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ CUN 2-1 บังคับให้ผลผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น CUN 20 ก่อ 310.08 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่ สายพันธุ์ CUN 2-5 , CUN 2-9 ให้ผลผลิตลดลงต่ำกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น

ดังนั้นจึงนำสายพันธุ์กวาง CUN 2-10 กลาษพันธุ์ต่ออีกครั้งด้วย NTG โดยใช้ภาวะเดียวกันกับการกลาษพันธุ์ด้วยสารเคมีในรอบแรก เพื่อกระตุ้นความสามารถในการผลิตกรดไชยาถูโรนิกเพิ่มมากขึ้น

3.12 การคัดเลือกเชื้อที่สร้างกรดไชยาถูโรนิกหลังการกลาษพันธุ์ *S.zooepidemicus* CUN 2-1 ด้วย NTG รอบที่ 3

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์กวางที่มีการผลิตกรดไชยาถูโรนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ

ทำการทดสอบเช่นเดียวกันกับการกลาษพันธุ์ด้วยสาร NTG ลังที่ผ่านมา จากโคลนนิที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 45 โคลนนิ และเมื่อผ่านการคัดเลือกในขั้นทุติยภูมิได้สายพันธุ์กวางที่ผลิตกรดไชยาถูโรนิกสูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น CUN 2-1 ดังแสดงในตารางที่ 19

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบปริมาณกรดไชยาถูโรนิกในอาหารเหlov เพื่อการผลิตของสายพันธุ์ตั้งต้น *S.zooepidemicus* CUN2-1 กับสายพันธุ์กวางที่ผ่านการฉาบແສງอัลตราไวโอเลต 3 รอบและซักนำด้วย NTG 3 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไชยาถูโรนิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้นของ กรดไชยาถูโรนิก
CUN3-5	325.92	4.71
CUN3-13	285.38	-8.31
CUN2-1	311.25	

หมายเหตุ : สายพันธุ์ตั้งต้น ก่อ สายพันธุ์ CUN 2-1

3.12.1 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์กวาง

ทดสอบหาปริมาณการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกด้วยวิธีかる์บานไซด์จากเชื้อสายพันธุ์กวาง CUN 3-5 และ CUN 3-13 หลังการทดสอบความเสถียรโดยการเตียงในอาหารเหตุเพื่อการผลิตหลังการถ่ายเชื้อไป 5 ครั้ง แต่คงผลดังตารางที่ 20

ตารางที่ 20 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของสายพันธุ์กวางต่าง ๆ หลังการซักนำด้วย NTG 3 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกหลัง จากการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาڑูโนนิก เมื่อเทียบกับก่อนการถ่ายเชื้อ
CUN3-5	325.92	314.62	-3.47
CUN3-13	285.58	288.68	+1.16
CUN2-1	311.25		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกาڑูโนนิกในขั้นต้น , + หมายถึง เพิ่มขึ้น , - หมายถึง ลดลง

จากการทดสอบสายพันธุ์กวาง CUN 3-5 สามารถสร้างกรดไอกาڑูโนนิกภายหลังจากมีการถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง ได้เพิ่มขึ้นจากสายพันธุ์ดั้งเดิม CUN 2-1 เพียงเล็กน้อย คือ 314.62 มิลลิกรัมต่อลิตร

ดังนั้นจึงนำสายพันธุ์กวาง CUN 3-5 มาทดแทนสายพันธุ์ดั้งเดิม NTG อีกครั้ง เพื่อกระตุ้นความสามารถในการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกให้สูงขึ้น โดยใช้วิธีการและภาวะการกاشพันธุ์ เช่นเดียวกับการทดสอบที่ผ่านมา

3.13 การคัดเลือกเชื้อที่สร้างกรดไอกาڑูโนนิกหลังการกاشพันธุ์ *S. zooepidemicus* CUN 3-5 ด้วย NTG รอบที่ 4

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์กวางที่มีการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมนิเทศทุคิยภูมิ

จากเชื้อที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมนิเทศ 180 โควินี และเมื่อผ่านการคัดเลือกในขั้นทุคิยภูมิ โดยวิธีการเดียวกับการทดสอบที่ผ่านมาได้สายพันธุ์กวางที่สร้างกรดไอกาڑูโนนิกเพิ่มขึ้น ดังตารางที่ 21

ตารางที่ 21 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขข้าวในอาหารเหลวเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ดังต้น *S. zooepidemicus* CUN3-5 กับสายพันธุ์ถูกตายที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบและซักนำด้วย NTG 4 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไขข้าวในนิก (มิลลิกรัมต่อถิตร)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไขข้าวในนิก
CUN4-7	472.17	34.54
CUN4-12	466.04	32.80
CUN4-25	438.21	24.87
CUN4-10	434.74	23.88
CUN4-32	428.77	22.04
CUN4-9	417.45	18.95
CUN4-41	406.60	15.85
CUN4-65	391.51	11.56
CUN4-92	385.34	9.80
CUN4-16	383.02	9.14
CUN3-5	350.94	

หมายเหตุ สายพันธุ์ดังต้น คือ : สายพันธุ์ CUN 3-5

3.13.1 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไขข้าวในนิกของสายพันธุ์ถูกตายต่าง ๆ หลังการซักนำด้วย NTG 4 รอบ

เลือกสายพันธุ์ถูกตาย 4 สายพันธุ์ที่ให้การผลิตกรดไขข้าวในนิกสูงในการคัดเก็บจาก 180 โคไลนี มาทดสอบขั้นทุติยภูมิเพื่อวิเคราะห์การผลิตกรดของเชื้อสายพันธุ์ถูกตาย หลังจากถ่ายเชื้อไป 5 ครั้ง ให้ผลการผลิตกรดไขข้าวในนิก ดังตารางที่ 22

ตารางที่ 22 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไชยาถูโรนิกของสายพันธุ์กลาญที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบและซักน้ำด้วย NTG 4 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไชยาถูโรนิก ก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อดิตร)	ปริมาณกรดไชยาถูโรนิก หลังจาก การถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อดิตร)	ร้อยละของกรดไชยาถูโรนิก เมื่อเทียบกับ ก่อนการถ่ายเชื้อ
CUN4-7	472.17	465.57	-1.40
CUN4-12	466.04	404.23	-13.26
CUN4-25	438.21	372.17	-15.07
CUN4-10	434.74	402.83	-7.34
CUN3-5	350.94		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไชยาถูโรนิกในขันด้น , + หมายถึง เพิ่มขึ้น , - หมายถึง ลดลง

พบว่าเชื้อ *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กลาญที่ได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไชยาถูโรนิกลดลงทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยที่สายพันธุ์กลาญ CUN 4-7 , CUN4-12 ,CUN4-25 ,CUN 4-10 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้ว ยังสามารถผลิตกรดไชยาถูโรนิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น CUN3-5 คิดเป็นร้อยละ 32.66 , 15.18 , 6.05 และ 14.79 ตามลำดับ

ดังนั้นจึงนำ CUN 4-7 ซึ่งเป็นสายพันธุ์กลาญที่ให้การผลิตกรดไชยาถูโรนิกสูงสุดในการทดสอบนี้ไปทำการกดลายพันธุ์ต่อตัวโดย NTG อีกครั้งเพื่อเพิ่มความสามารถในการผลิตกรดไชยาถูโรนิกได้มากขึ้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.14 การคัดเลือกเชื้อที่สร้างกรดไขยากรูโนนิกหลังการก่อภัยพันธุ์ *S. zooepidemicus* CUN 4-7 ด้วย NTG รอบที่ 5

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ก่อภัยที่มีการผลิตกรดไขยากรูโนนิกเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมนิเทศทุติยภูมิ

ในการคัดเลือกสายพันธุ์ก่อภัยหลังการก่อภัยพันธุ์ด้วย NTG รอบที่ 5 กับเชื้อสายพันธุ์ CUN 4-7 ได้เชื้อที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมนิเทศทั้งหมด 60 โภคaine และนำมาทดสอบขั้นทุติยภูมิต่อไปได้สายพันธุ์ก่อภัยที่ให้การผลิตกรดไขยากรูโนนิก สูงมากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น CUN 4-7 ดังแสดงในตารางที่ 23

ตารางที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณกรดไขยากรูโนนิกในอาหารเหตุเพื่อการผลิตของสายพันธุ์ตั้งต้น *S.zooepidemicus* CUN4-7 กับสายพันธุ์ก่อภัยที่ผ่านการฉายแสงอัลตราไวโอเลต 3 รอบและซักน้ำด้วย NTG 5 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณการผลิตกรดไขยากรูโนนิก (มิลลิกรัมต่อถั่ว)	ร้อยละการเพิ่มขึ้น ของกรดไขยากรูโนนิก
CUNS-10	585.85	23.98
CUNS-32	534.91	13.20
CUNS-19	519.81	10.01
CUNS-15	499.06	5.61
CUN4-7	472.53	

หมายเหตุ : สายพันธุ์ตั้งต้น คือ สายพันธุ์ CUN 4-7

3.14.1 การทดสอบความถลีบร์ในการผลิตกรดไขยากรูโนนิกของสายพันธุ์ก่อภัย

เมื่อนำสายพันธุ์ก่อภัยทั้ง 4 ที่ผ่านการทดสอบขั้นทุติยภูมิ ตามการทดสอบในข้อ มาเดือ๊งในอาหารเหตุเพื่อการผลิตอีกครั้ง หลังจากมีการถ่ายเชื้อไป 5 กรัม โดยทำการทดสอบเช่นเดิมกับการทดสอบขั้นทุติยภูมิ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น วัดปริมาณกรดไขยากรูโนนิกที่ผลิตได้ดังตารางที่ 24

ตารางที่ 24 การทดสอบความเสถียรในการผลิตกรดไอกาสูโรนิกของสายพันธุ์กล้ายต่าง ๆ ที่ผ่านการซักนำโดยสาร NTG 5 รอบ

สายพันธุ์	ปริมาณกรดไอกาสูโรนิกก่อนการถ่ายเชื้อ* (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ปริมาณกรดไอกาสูโรนิกหลังจากถ่ายเชื้อ 5 ครั้ง (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ร้อยละของกรดไอกาสูโรนิกเมื่อเทียบกับก่อนการถ่ายเชื้อ
CUN5-10	585.85	567.85	-3.07
CUN5-32	534.91	518.34	-3.10
CUN5-19	519.81	498.30	-4.14
CUN5-15	499.06	502.18	+0.63
CUN4-7	472.53		

* หมายถึง ค่าที่ได้จากปริมาณกรดไอกาสูโรนิกในขั้นต้น , + หมายถึง เพิ่มขึ้น , - หมายถึง ลดลง

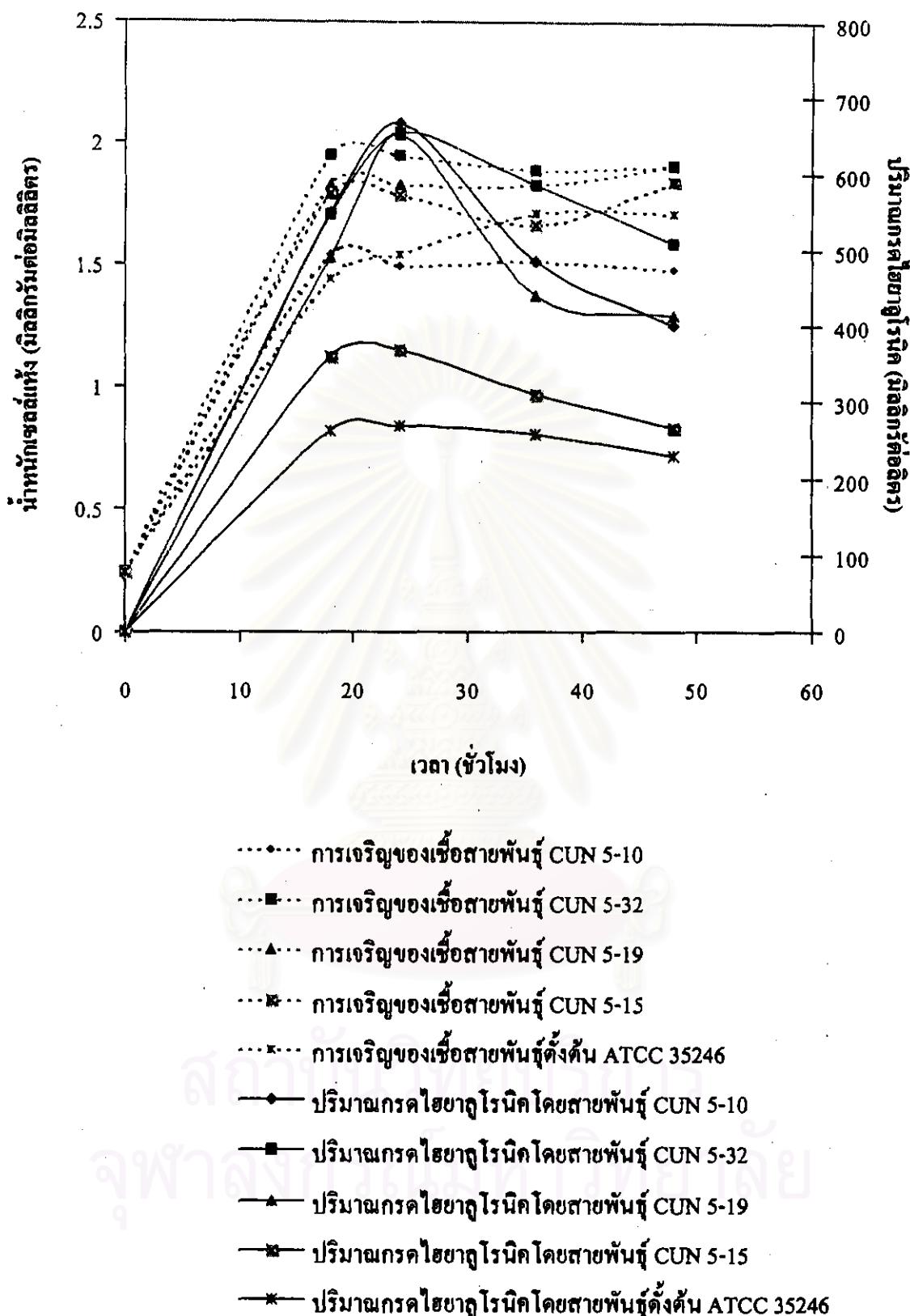
S. zooepidemicus สายพันธุ์กล้ายต่าง ๆ 4 สายพันธุ์ มีการผลิตกรดไอกาสูโรนิกลดลงโดยสายพันธุ์ CUN 5-10 , CUN 5-32 , CUN 5-19 และ CUN 5-15 หลังจากถ่ายเชื้อจำนวน 5 ครั้งแล้ว ยังคงสามารถผลิตกรดไอกาสูโรนิกได้สูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้นคิดเป็นร้อยละ 20.17 , 9.69 , 5.45 และ 6.27 ตามลำดับ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.15 การศึกษาการเจริญและการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกของ *S.zooepidemicus* ATCC 35246 และสายพันธุ์กวางที่ผ่านการทดสอบคุณภาพทางชีวเคมีต่อคร่าวัวไอโอเกต 3 รอบ และ NTG 5 รอบ

เดิม *S. zooepidemicus* ATCC 35246 และ สายพันธุ์กวางทั้ง 4 อันได้แก่ CUN 5-10 , CUN5-15 ,CUN5-19 และ CUN 5-32 ในอาหารเดิมเชื้อเพื่อการผลิตในระดับขั้นเบื้องต้น ที่อุณหภูมิห้องโดยปรับ ค่าความเป็นกรดค่า 6.8 ความเร็วในการเจริญ 200 รอบต่อนาที พบว่า การเจริญของสายพันธุ์กวางทั้ง 4 สายพันธุ์และสายพันธุ์ตั้งต้นให้การเจริญในรูปแบบเดียวกัน โดยสายพันธุ์ CUN 5-32 ให้การเจริญสูงสุด และ CUN 5-15 ,CUN 5-19 ,ATCC 35246 และ CUN5-10 ให้การเจริญลดลงตามลำดับ สำหรับการผลิตกรดไฮยาลูโรนิกพบว่า สายพันธุ์ CUN 5-10 ให้ปริมาณกรดสูงสุดคือ 666.67 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงที่ 24 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ตั้งต้น ATCC 35246 ให้การผลิตกรดสูงสุดที่เวลาเดียวกัน เท่ากับ 267.59 มิลลิกรัมต่อลิตร สายพันธุ์กวาง ให้การผลิตที่สูงกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น กิตเป็นร้อยละ 149.137 (รูปที่ 25)

**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**



รูปที่ 25 การเจริญและการผลิตกรดไฮยาคูโรนิกของเชื้อสายพันธุ์กลาบ *S.zooepidemicus* CUN5-10 , CUN5-32 , CUN5-19 , CUN5-15 และสายพันธุ์ตั้งต้น *S.zooepidemicus* ATCC 35246 เมื่อเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเพื่อการผลิตค่าความเป็นกรดค่า 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง , 200 รอบต่อนาที

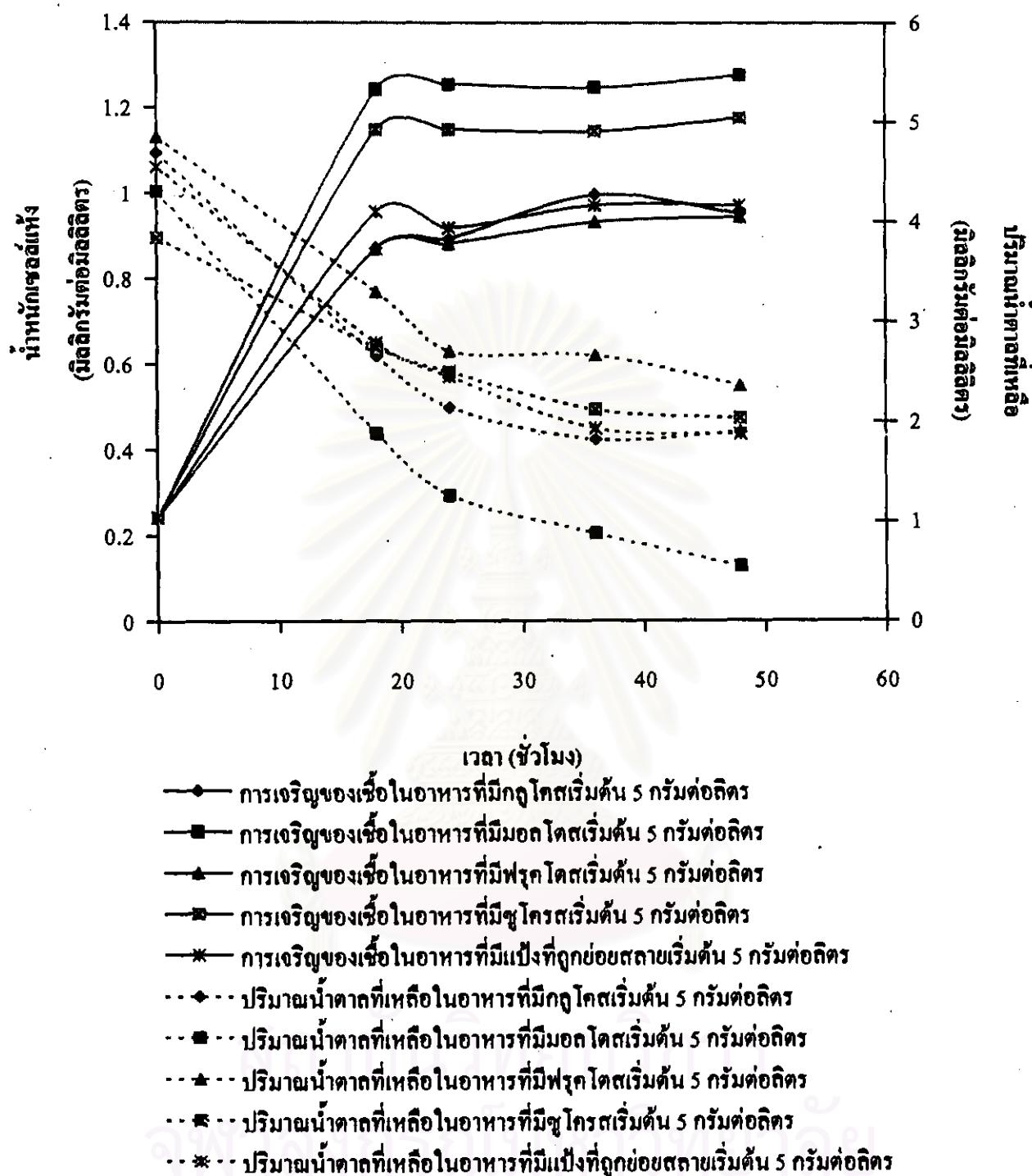
3.16 การศึกษาการใช้แหล่งการ์บอนหลักบางชนิดในการผลิตกรดไอกา幽โวนิกของสายพันธุ์กลา
***S. zooepidemicus* สายพันธุ์กลา CUN 5-10**

จากการศึกษาถึงแหล่งการ์บอนชนิดต่างๆ ต่อการเจริญและการผลิตกรดไอกา幽โวนิกของ ชุดินทรีย์พบว่าจากการงานของจุราภิค ศรีวงศ์ (2540) ที่ทำการศึกษาชนิดของน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดไอกา幽โวนิกโดย *S.zooepidemicus* ATCC 35246 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ดั้งเดิมในงานวิจัยนี้ พนว่าอาหารเดี่ยงเชื้อเหลวที่มีชูไครสเป็นแหล่งการ์บอนจะให้การเจริญและการผลิตกรดไอกา幽โวนิกสูงสุด

ดังนั้นจึงศึกษาถึงชนิดของน้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งการ์บอนในการเจริญและการผลิตกรดไอกา幽โวนิกของสายพันธุ์กลาเช่นกัน โดยแบ่งชนิดน้ำตาล 5 ชนิด คือ กะ奴โคล, ชูไครส, นอลโคล, ฟรุกโคล และ แป้งที่ย้อมสีตามแต่ ที่อุณหภูมิห้อง, ค่าความเป็นกรด-ค้าง 6.8 อัตราเร็วในการเบี่ยง 200 รอบต่อนาที พนว่าสายพันธุ์กลา CUN5-10 แต่เจริญในอาหารเดี่ยงเชื้อเหลวที่มี นอลโคลเป็นแหล่งการ์บอนได้สูงสุด แต่การผลิตกรดไอกา幽โวนิก เมื่อมีชูไครสเป็นแหล่งการ์บอน โดยให้ปริมาณกรดไอกา幽โวนิก 647.44 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 26ก, 26ข)

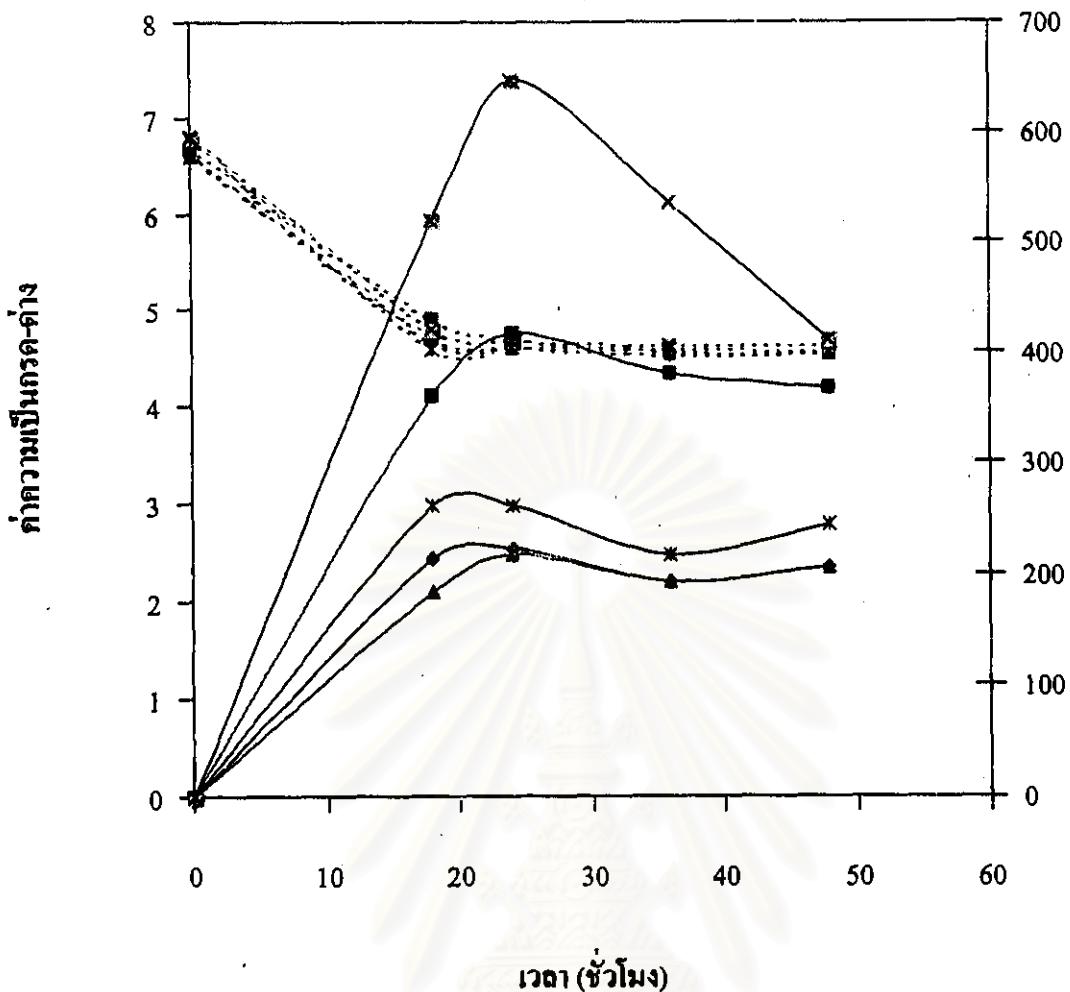
3.17 การศึกษาปริมาณของน้ำตาลชูไครสที่มีผลต่อรูปแบบการเจริญ ค่าความเป็นกรดค้าง และ ปริมาณกรดไอกา幽โวนิกที่มีผลต่อโดย *S.zooepidemicus* สายพันธุ์ CUN 5-10

จากการศึกษาพบว่า *S.zooepidemicus* สายพันธุ์ CUN 5-10 ใช้ชูไครสเป็นแหล่งการ์บอนที่ดีที่สุดในการผลิตกรดไอกา幽โวนิก ดังนั้นจึงศึกษาถึงปริมาณชูไครสที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไอกา幽โวนิกโดยใช้การเดี่ยงที่ อุณหภูมิห้อง ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารเดี่ยงเชื้อ 6.8 และ ความเร็วของในการเบี่ยง 200 รอบต่อนาที พนว่าเชื้อเจริญสูงในอาหารที่มีปริมาณชูไครสเป็น 0.5 , 0.1 , 1.0 , 2.0 , 4.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สำหรับการผลิตกรดไอกา幽โวนิกพบว่า ที่ ปริมาณน้ำตาลชูไครส 1 เปอร์เซ็นต์ ให้การผลิตกรดสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 726.59 มิลลิกรัมต่อลิตรและที่ปริมาณชูไครส 10 เปอร์เซ็นต์ ให้การผลิตกรดค้างที่สูง คือ 404.65 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ ชั่วโมงที่ 18 (รูปที่ 27ก, 27ข)



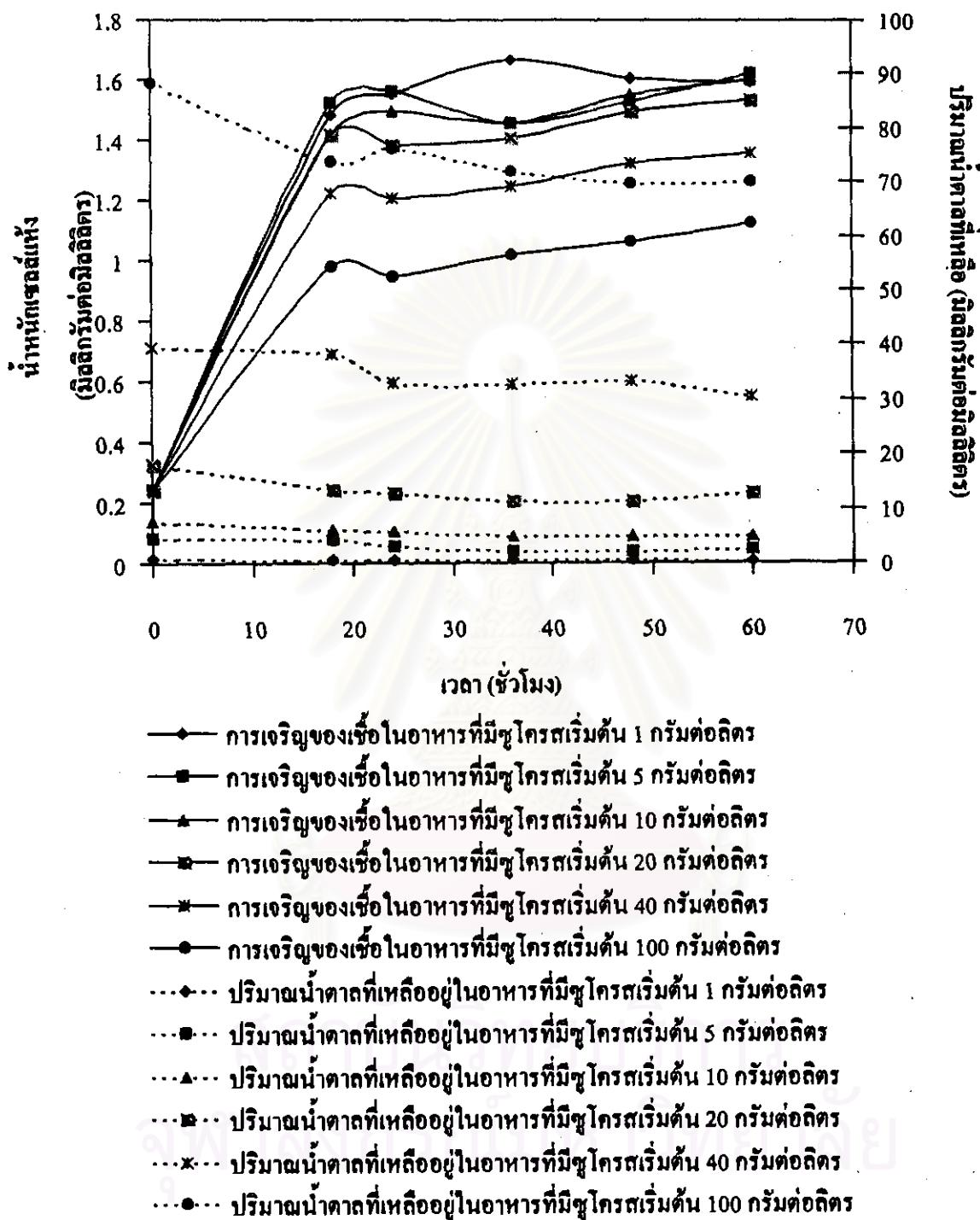
รูปที่ 26 ก การเจริญและปริมาณน้ำตาลที่เหลือในอาหารเดี่ยงเชื้อเห็ดวูเพื่อการผลิตโดย *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กดาบ CUN 5-10 โดยแบ่งผู้ติดต่อเป็น群ต่อ群ค่าง 6.8 ฉุพหกนิ้วห้อง ความเร็วตอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที

ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสัน (มีผลตัวรับนิดเดียว)

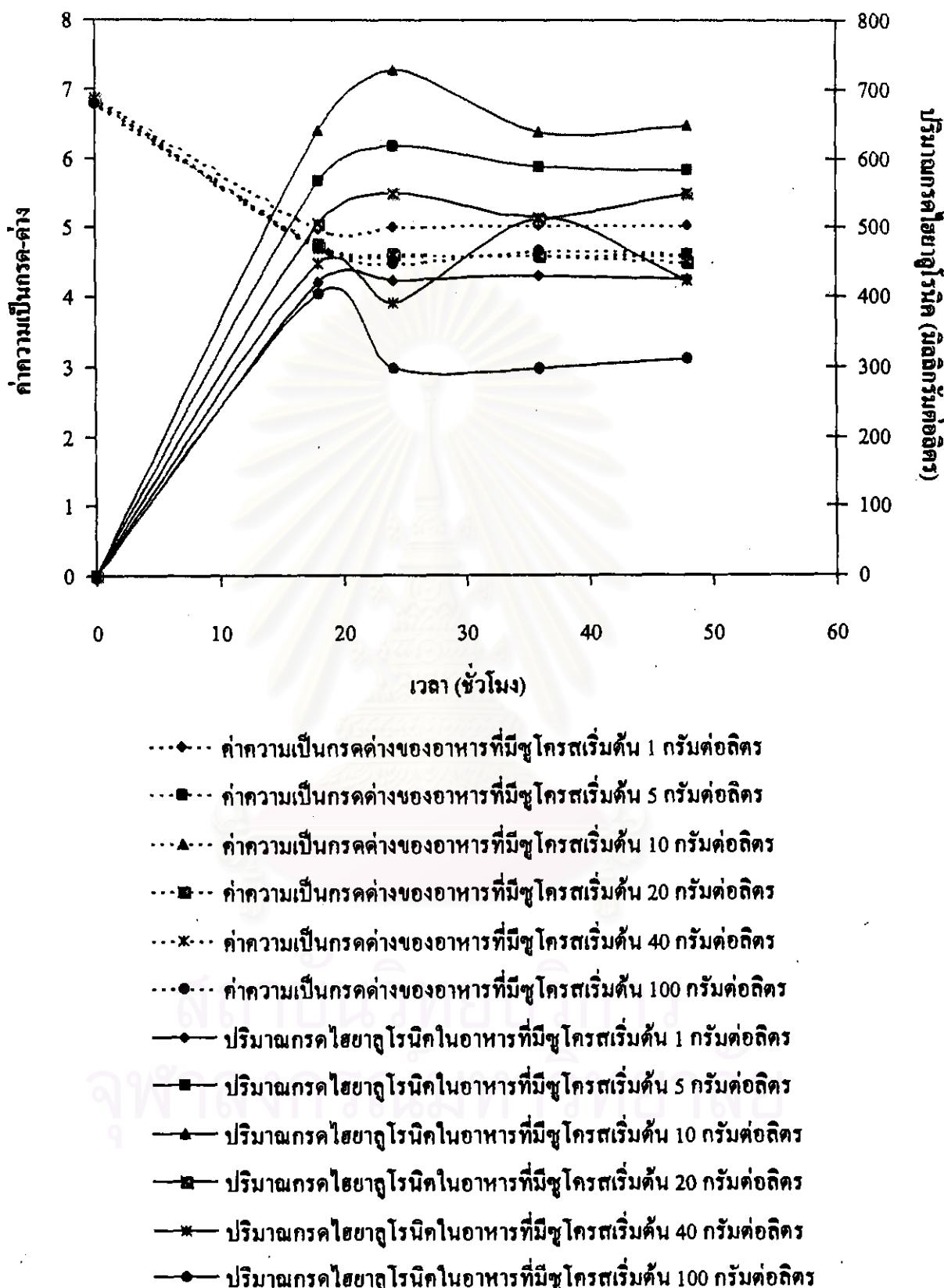


- ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารที่มีกรูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารที่มีมอลิโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ▲··· ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารที่มีฟรูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ◆··· ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารที่มีซูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ×··· ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารที่มีแป้งที่ถูกย่อยสดๆเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสันในอาหารที่มีกรูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสันในอาหารที่มีมอลิโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ▲—— ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสันในอาหารที่มีฟรูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- ◆—— ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสันในอาหารที่มีซูโคสเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว
- *—— ปริมาณการคัดแยกยาโรบินสันในอาหารที่มีแป้งที่ถูกย่อยสดๆเริ่มต้น 5 กรัมต่อตัวตัว

รูปที่ 26x ค่าความเป็นกรดค้างของอาหารและการผลิตกรดไฮยาซูโรบินสันของ *S. zooepidemicus* สายพันธุ์กากาย CUN 5-10 ในอาหารเตี๊ยงเชือเหลวเพื่อการผลิตโดยแบ่งผู้ทดลอง ค่าความเป็นกรดค้าง 6.8 ถูกกำหนดให้ห้องความเร็วอบในการเขย่า 200 รอบต่อนาที



รูปที่ 27ก การเจริญและปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเวลาเพื่อการผดิดโดย *S.zooepidemicus* สายพันธุ์กากай CUN 5-10 โดยแบ่งผันปริมาณชูไครส 0.1 – 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดค่า 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วในการเปลี่ยน 200 รอบต่อนาที



รูปที่ 27x ค่าความเป็นกรดค่างของอาหารและการผลิตกรดไอกาڑูโนนิกของ *S. zooepidemicus* สายพันธุ์กถาย CUN 5-10 ในอาหารเดี่ยงเชื้อเหตุเพื่อการผลิตโดยแบ่งผัดปริมาณเชื้อไวรัส 0.1 – 10 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดค่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที

3.18 ปัจจัยทางกายภาพที่เหมาะสมในการผลิตกรดไอกาอูโรนิก

3.18.1 ค่าความเป็นกรดค่างที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไอกาอูโรนิก

ทำการแปรผันค่าความเป็นกรดค่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเหตุเพื่อการผลิตเป็น 6.0 , 6.5 , 6.8 , 7.0 และ 7.5 โดยเลี้ยงเชื้อสายพันธุ์ CUN5-10 ที่อุณหภูมิห้อง ความเร็วในการเบ่า 200 รอบต่อนาที พบว่า ค่าความเป็นกรดค่างที่ 7.5 จะให้การเจริญที่ดีกว่า 7.0 , 6.8 , 6.5 และ 6.0 ตามลำดับ ส่วนการผลิตกรดไอกาอูโรนิกพบว่า ที่ค่าความเป็นกรดค่างเท่ากับ 7.5 จะให้การผลิตกรดสูงสุดที่ช้า ในงวดที่ 24 เท่ากับ 824.28 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่เปรียบเทียบกับรายงานของชาร์รัก ศรีวงศ์ (2540) พบว่า เชื้อสายพันธุ์ดังต้น ATCC 35246 ให้การผลิตที่สูงสุดเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด ค่าง 6.8 โดยให้การผลิตสูงสุดที่ช้าในงวดที่ 24 ของการเลี้ยงเชื้อเร่นกัน (รูปที่ 28)

3.19.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไอกาอูโรนิก

ทำการเลี้ยง *S.zooepidemicus* สายพันธุ์ถูกตาย CUN 5-10 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตโดย มีปรินา yayz ไครต 1 เปอร์เซ็นต์ ค่าความเป็นกรดค่าง 7.5 ความเร็วในการเบ่า 200 รอบต่อนาที และ แปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยง 25 , 30 , 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) พบว่า ที่อุณหภูมิห้องให้การเจริญสูงสุด และที่อุณหภูมิ 37, 30 , 25 องศาเซลเซียสให้ การเจริญสูง ตามลำดับ ส่วนการผลิตกรดไอกาอูโรนิกพบว่า ที่ช้าในงวดที่ 24 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้การผลิตกรดไอกาอูโรนิกสูงสุด 954.04 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับทุกๆ อุณหภูมิโดย ที่อุณหภูมิห้องให้ปริมาณกรดสูงสุดที่ช้าในงวดที่ 24 เท่ากับ 841.39 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสให้ปริมาณกรดสูงที่สุด 779.78 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ช้าในงวดที่ 18 (รูปที่ 29)

3.19.3 ความเร็วอนในกระบวนการเบี้ยที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดไฮยาซูโรนิก

จากผลการทดลองเบรินเทียนที่บันทึกว่าการผลิตกรดไฮยาซูโรนิกโดยเชื้อสายพันธุ์ตั้งต้น *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในระดับขวดเบี้ย แต่ในระดับหกขวดเบี้ย พบว่า ในระดับหกขวดเบี้ยให้ปริมาณกรดไฮยาซูโรนิกต่ำกว่าในระดับขวดเบี้ย ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยของปริมาณของชีโภณที่มีผลต่อการผลิต ประกอบกับรายงานที่แสดงให้เห็นอิทธิพลของปริมาณของชีโภณที่มีต่อการผลิตกรดไฮยาซูโรนิก (Cleary and Larkin , 1979 ; John et al. , 1994) จึงทำการแบ่งผันความเร็วอนในการเบี้ยเป็น 200 , 250 และ 300 รอบต่อนาที ภาวะอุณหภูมิห้อง ค่าความเป็นกรดค่า 7.5 โดยมี ชุดครัส 1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งการอนในอาหารเดิมเชื่อเพื่อการผลิต พบว่า การเจริญของสายพันธุ์ถูกตาย CUN 5-10 ที่ความเร็วอน ทั้ง 3 ไม่มีความแตกต่างกัน แต่การผลิตกรดไฮยาซูโรนิกที่ ภาวะความเร็วอนในการเบี้ย 200 รอบต่อนาที ให้การผลิตกรดสูงสุดที่ช้าใบงที่ 24 เท่ากับ 829.11 มิลลิกรัมต่อตันตร (ข้อที่ 30)

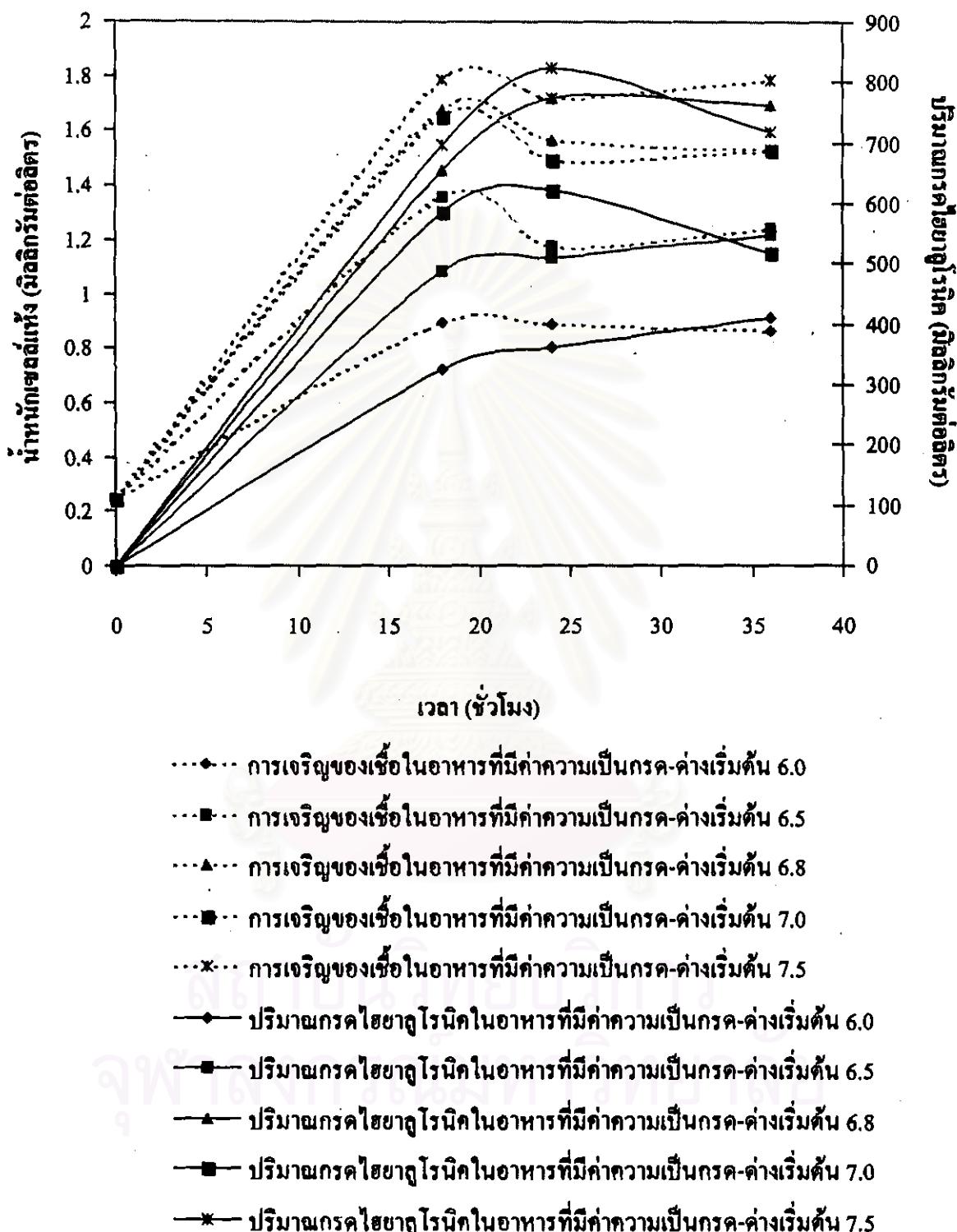
3.19.4. ปริมาณไอกไซไซม์ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงเชื้อสายพันธุ์ก่อภัยเพื่อการผลิตกรดไฮยาซูโรนิก

รายงานของ Kim และคณะ ในปี 1996 เกี่ยวกับการเติมไอกไซไซม์และการคีเทอร์เจนที่จะกระตุ้นการสร้างกรดไฮยาซูโรนิกเพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นจึงเดิมเชื้อสายพันธุ์ตั้งต้น ATCC 35246 ในอาหารเดิมเชื่อเพื่อการผลิตกรดไฮยาซูโรนิกที่ค่าความเป็นกรดค่า 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) ความเร็วในการเบี้ย 200 รอบต่อนาที และที่ ค่าความเป็นกรดค่า 7.5 อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) ความเร็วในการเบี้ย 200 รอบต่อนาที สำหรับเชื้อสายพันธุ์ถูกตาย CUN5-10 โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อตั้งต้น 20 เปอร์เซ็นต์ ชาวยหัวเชื้อตั้งต้น 7 ชั่วใบง เดิมเชื้อจนถึงช่วงการเจริญที่วัดค่าการคุณค่าในแต่ละช่วงของ匕านิตรีติน 660 นาโนเมตร ได้ 0.6 จึงทำการเติมไอกไซไซม์ที่ความเข้มข้น 0 - 50,000 ยูนิต/มิลลิกรัม เก็บตัวอย่างที่เวลาค่าต่างๆ วิเคราะห์คุณภาพการเจริญและปริมาณการผลิตกรดไฮยาซูโรนิก พนว่า สำหรับสายพันธุ์ตั้งต้น ATCC 35246 การเติมไอกไซไซม์ มีผลทำให้การสร้างกรดไฮยาซูโรนิกเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณไอกไซไซม์ต่างๆ กัน ให้ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นไม่แตกต่างกันนัก ขณะที่สายพันธุ์ถูกตาย CUN5-10 เมื่อเติมไอกไซไซม์ปริมาณ 40,000 ยูนิตต่อ มิลลิกรัมมีผลกระตุ้นการสร้างกรดไฮยาซูโรนิกได้สูงถึง 2.50 กรัมต่อตันตร (ข้อที่ 31 , 32)

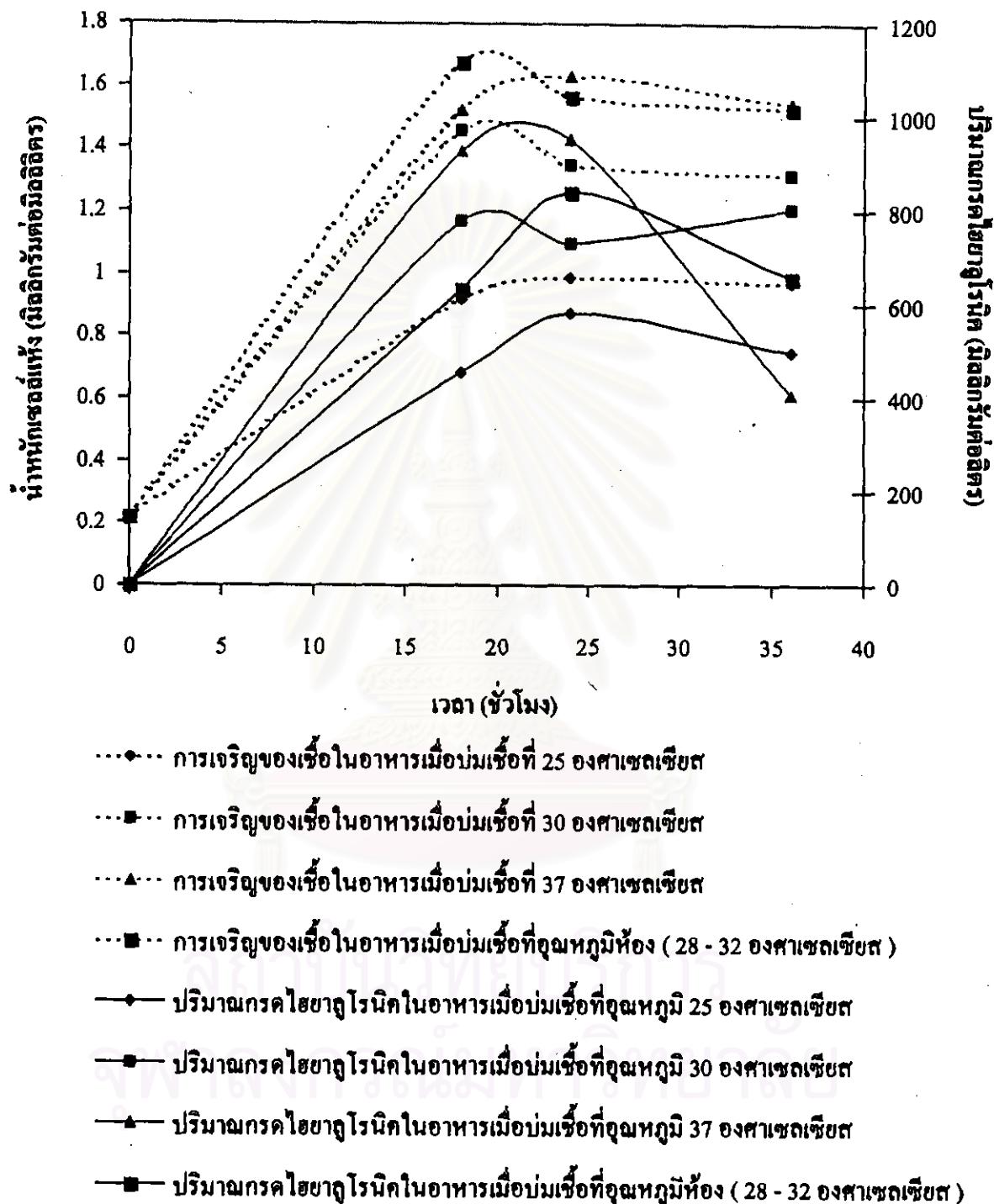
3.19.5 ปริมาณทวิน 80 ที่เหมาะสมต่อการเดี่ยงเชือสายพันธุ์กถางเพื่อการผลิตกรดไชยาถูโรนิก

เดี่ยงเชือสายพันธุ์ตั้งต้นในอาหารเดี่ยงเชือเพื่อการผลิตกรดไชยาถูโรนิกที่ค่าความเป็นกรดต่าง 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) ความเร็วในการเบ่า 200 รอบต่อนาที และเดี่ยงเชือสายพันธุ์กถาง ในอาหารเดี่ยงเชือเพื่อการผลิต ค่าความเป็นกรดต่าง 7.5 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) ความเร็วในการเบ่า 200 รอบต่อนาที โดยใช้ปริมาณหัวเชือตั้งต้น 20 เปอร์เซ็นต์ ชาบูหัวเชือตั้งต้น 7 ชั่วโมง เดี่ยงเชือจนถึงช่วงการเบริญที่วัดค่าการอุดกตันแห้งที่ความยาวคืน 660 นาโนเมตรได้ 0.6 จึงทำการเดินทวิน 80 ที่ความเห็นขั้น 0 – 2 เปอร์เซ็นต์ เก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ วิเคราะห์คุณภาพการเบริญและปริมาณการผลิตกรดไชยาถูโรนิก พนว่าทวิน 80 ที่เดินลงในอาหารหมักมีผลในการกระตุนการสร้างกรดไชยาถูโรนิกทั้งในสายพันธุ์ตั้งต้นและสายพันธุ์กถาง ไม่ถุงขึ้นเท่าไนก โดยที่สายพันธุ์ตั้งต้นเมื่อเดิน 2.0 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ทวิน 80 มีผลให้สร้างกรดไชยาถูโรนิกได้ถุงถึง 297.61 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมงที่ 24 ขณะที่สายพันธุ์กถาง ปริมาณทวิน 80 ต่างๆ ที่เดินในอาหารหมักให้ผลที่ไม่แตกต่างกัน โดยที่ปริมาณ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ทวิน 80 ที่เดินลงในอาหารหมักสำหรับสายพันธุ์ตั้งต้น สามารถผลิตกรดไชยาถูโรนิกได้สูง 775.18 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูปที่ 33 , 34)

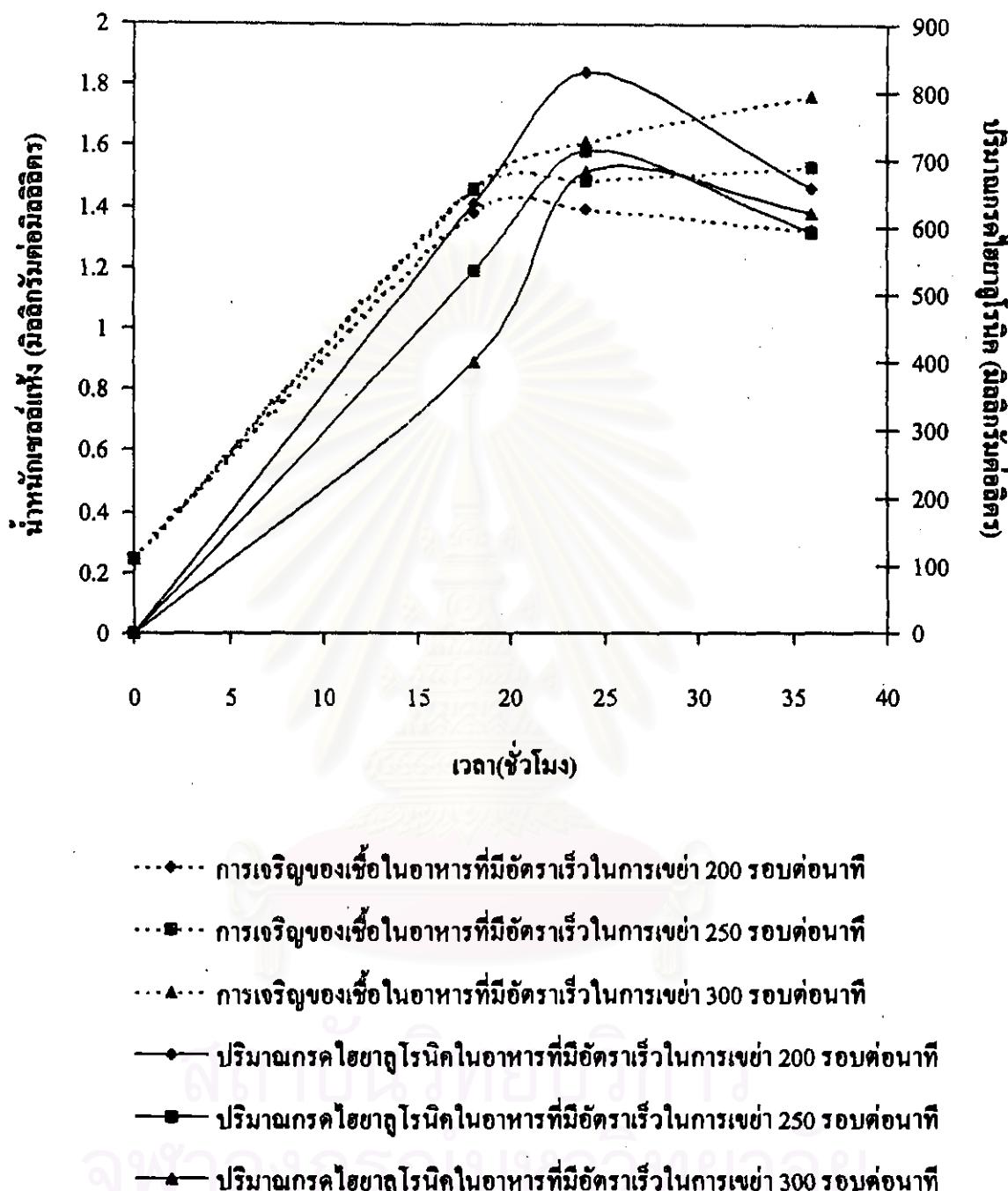
**สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย**



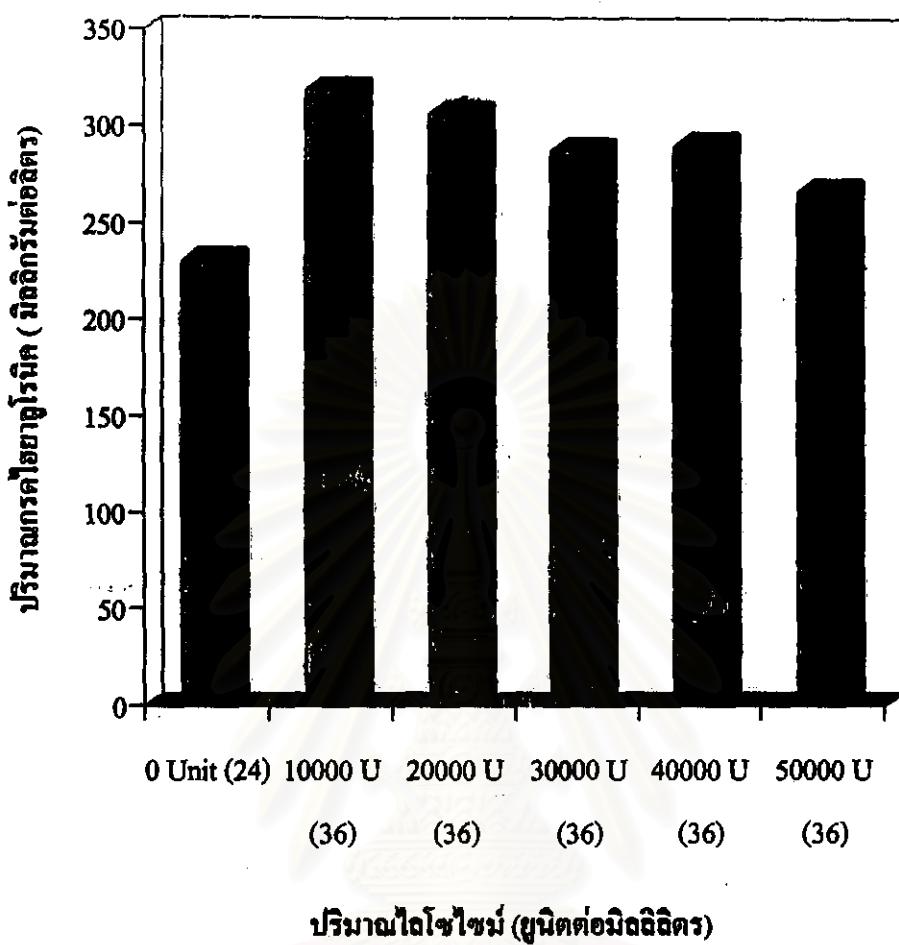
รูปที่ 28 ผลกระทบค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีต่อการเจริญและการผลิตกรดไชยาสูตรนิกของ *S. zooepidemicus* CUN5-10 เมื่อเติบโตในอาหารเตี้ยงเชื้อเหลาเพื่อการผลิตที่ อยุธยา มีห้อง , อัตราเริ่วในการเจร่า 200 รอบต่อนาที



รูปที่ 29 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญและการผลิตกรดไไฮยาซูโรนิกของ *S. zooepidemicus* CUN5-10 เมื่อเติบโตในอาหารเดี๋ยงเชื้อเหตุผลเพื่อการผลิต ค่าความเป็นกรดค่า 7.5 และอัตราเร็วในการเจริญ 200 รอบต่อนาที

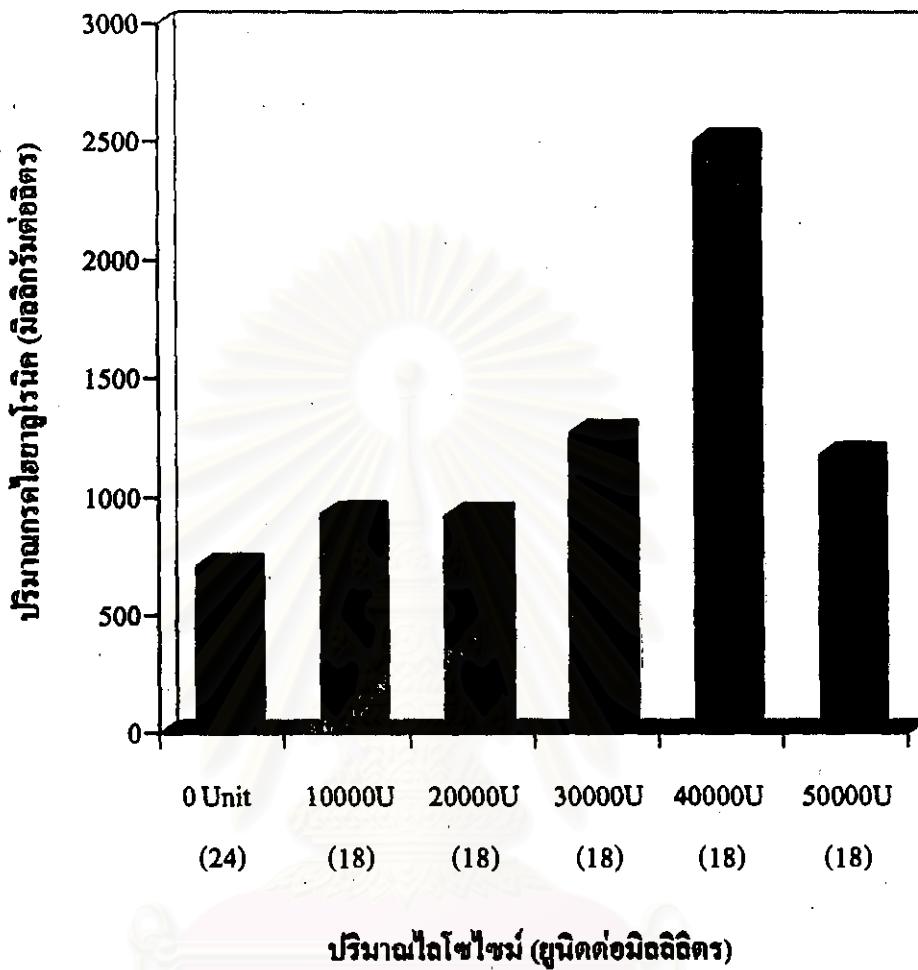


รูปที่ 30 ผลของอัตราเร็วในการเขย่าที่มีต่อการเจริญและการผลิตกรดไฮยาคูโรนิกของ *S. zooepidemicus* CUN5-10 เมื่อเพียงในอาหารเดี่ยงเชื้อเหตุเพื่อการผลิต ที่อุณหภูมิห้อง ขณะค่าความเป็นกรดต่างของอาหารเดี่ยงเชื้อ 7.5



รุปที่ 31 ผลของไก่ไว้ใช้มีผลต่อการผลิตคราบเชื้อในนิกของ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อการผลิตสูตรปรับปรุงจาก Nimrod (1986) ที่มีปริมาณซูโคโรส 5 กรัมต่อถิตร ค่าความเป็นกรด-ค้างเริ่มต้น 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) อัตราเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อาชุดหัวเชื้อ 7 ชั่วโมง

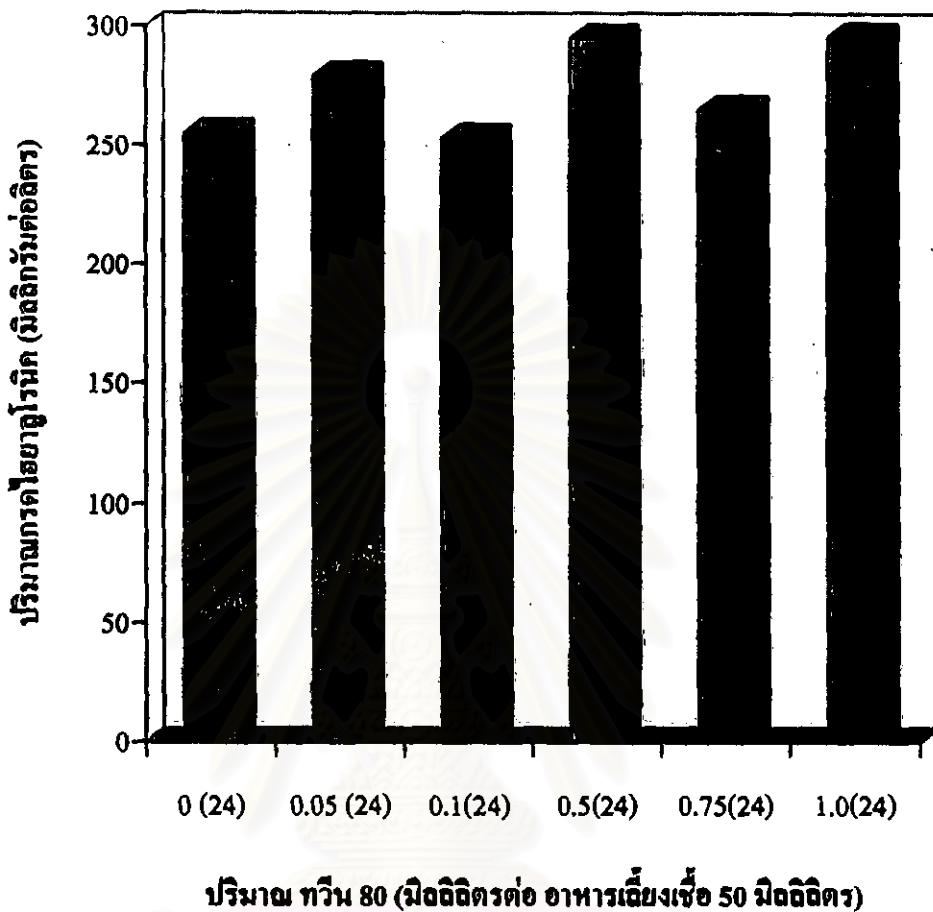
หมายเหตุ ตัวเลขในวงเดือนหมายถึงเวลาการเลี้ยงเชื้อ (ชั่วโมง)



■ ปริมาณกรดไไซยาซูโรนิกในอาหารเด็กเชื้อที่เติมไอกไซไซน์ที่ปริมาณต่างๆ

รุ่ปที่ 32 ผลของไอกไซไซน์ที่มีผลต่อการผลิตกรดไไซยาซูโรนิกของ *S. zooepidemicus* CUN5-10 ในอาหารเด็กเพื่อการผลิตสูตรปรับปรุงจาก Nimrod (1986) ที่มีปริมาณซูโกรส 10 กรัมต่อถิตร ค่าความเป็นกรด-ค่าเริ่มต้น 7.5 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) อัตราเร็วในการเขย่า 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อายุหัวเชื้อ 7 ชั่วโมง

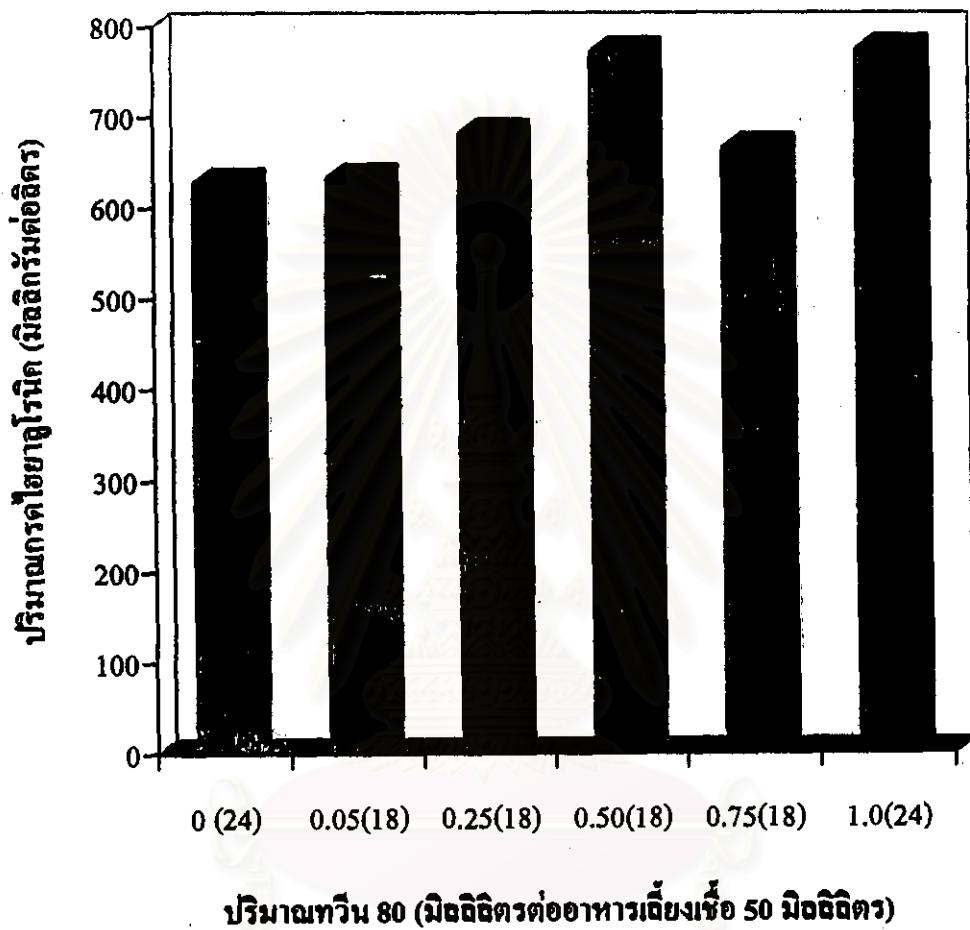
หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงเวลาการเด็กเชื้อ (ชั่วโมง)



■ ปริมาณกรดไฮยาคูโรนิกในอาหารเตี๊ยงเชื้อที่เดิน ทวิน 80 ที่ปริมาณต่างๆ

รูปที่ 33 ผลของทวิน 80 ที่มีผลต่อการผลิตกรดไฮยาคูโรนิกของ *S. zooepidemicus* ATCC 35246 ในอาหารเตี๊ยงเชื้อเพื่อการผลิตสูตรปรับปรุงจาก Nimrod (1986) ที่มีปริมาณซูโคโรส 5 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ค่าเริ่มต้น 6.8 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) อัตราเร็วในการ孵 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) อยู่หัวเชื้อ 7 ชั่วโมง

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงเวลาการเตี๊ยงเชื้อ (ชั่วโมง)



■ ปริมาณกรดไอยาตุโรนิกในอาหารเดี่ยงเชื้อที่เติมทวีน 80 ปริมาณต่างๆ

รูปที่ 34 ผลของทวีน 80 ที่มีผลต่อการผลิตกรดไอยาตุโรนิกของ *R. zooepidemicus* CUN 5-10 ในอาหารเดี่ยงเชื้อเพื่อการผลิตสูตรปรับปรุงจาก Nimrod (1986) ที่มีปริมาณชูไครส์ 10 กรัมต่อติดตัว ค่าความเป็นกรด-ค่าคงเริ่มต้น 7.5 ที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) อัตราเร็วในการเบี่ยง 200 รอบต่อนาที ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20% (ปริมาตรต่อปริมาตร) ชาขุหัวเชื้อ 7 ชั่วโมง

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเดือนหมายถึงเวลาการเดี่ยงเชื้อ (ชั่วโมง)

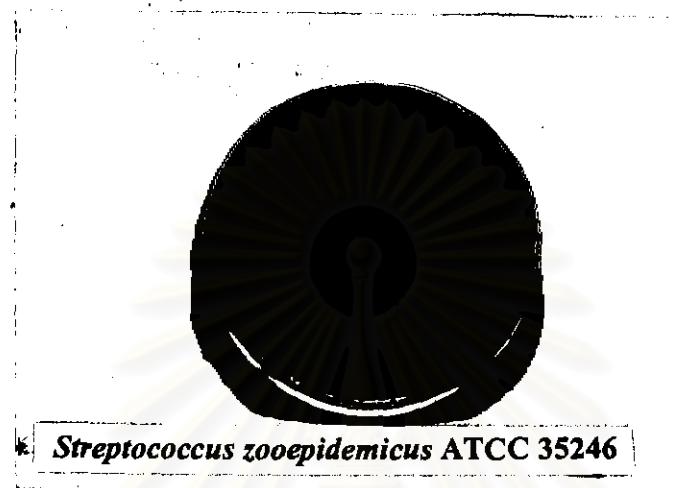
3.20 เปรียบเทียบสมบัตินางประการของเชื้อสายพันธุ์ตึ้งตัน *S.zooepidemicus* ATCC 35246 และสายพันธุ์ถูกตาย *S.zooepidemicus* CUN5-10

ตามถักยักษะของแบคทีเรีย (bacteriological characteristic) ในกลุ่มของ *Streptococci* ที่รายงานโดย Deibei และ Seeley ในปี 1974 ที่กล่าวไว้ว่า เป็นแบคทีเรียติดตีแกรนบวก สามารถยับยั่งหิร็อย ไม่ยับยั่งสายเม็ดเดือดแดง ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ไม่เจริญในอาหารเกี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 9.6 และไม่เจริญในอาหารที่มีไข่เดือนกlostอไรด์ 9.6 เปอร์เซ็นต์ และจากการรายงานของ Kim และคณะ ในปี 1996 ที่ศึกษาถักยักษะของแบคทีเรียสายพันธุ์ถูกตาย *S.equi* KFCC 10830 ซึ่งถูกแยกจาก *S.equi* ATCC 6580 ดังนั้นในง่ายวิธี จึงศึกษาและเปรียบเทียบถักยักษะของแบคทีเรียสายพันธุ์ตึ้งตัน *S.zooepidemicus* ATCC 35246 และสายพันธุ์ถูกตาย *S.zooepidemicus* CUN5-10 ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 25 และรูปที่ 35

ตารางที่ 25 สมบัตินางประการของเชื้อสายพันธุ์ตึ้งตัน *S.zooepidemicus* ATCC 35246 และสายพันธุ์ถูกตาย *S.zooepidemicus* CUN5-10

สมบัติ	<i>S. zooepidemicus</i> ATCC 35246	<i>S. zooepidemicus</i> CUN 5-10
การขึ้นติดตีแกรน	บวก (น้ำเงิน)	บวก (น้ำเงิน)
การยับยั่งสายเม็ดเดือดแดง	-	-
เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส	-	-
เจริญที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 9.6	-	-
เจริญที่ 6.5% NaCl	-	-

พบว่า เชื้อสายพันธุ์ตึ้งตัน *S.zooepidemicus* ATCC 35246 และสายพันธุ์ถูกตาย *S.zooepidemicus* CUN5-10 เป็นแบคทีเรียติดตีแกรนบวก ไม่ยับยั่งสายเม็ดเดือดแดง ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ไม่เจริญในอาหารเกี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 9.6 และไม่เจริญในอาหารที่มีไข่เดือนกlostอไรด์ 9.6 เปอร์เซ็นต์



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 35 ถักขยะไก่โคนีและสมบัติการไม่บ่อystaphyrmicidae เกิด clangของ *Streptococcus zooepidemicus* ATCC 35246 (สายพันธุ์ดั้น) และ *Streptococcus zooepidemicus* CUN5-10 (สายพันธุ์กดาย) บนอาหารแข็ง Tryptic Soy Agar ที่เติมเกือบ 5 เปอร์เซ็นต์ บนที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง