บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการทดลอง

3.1.1 เครื่องแก้ว

1) หลอดทดลอง (Test tube) ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

2) หลอดทดลองฝาเกลียว (Screwcap tube) ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

3) บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 50 100 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

4) จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (Petri dish or Plate) ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

5) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

6) ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 และ 1000 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

7) ปิเปต (Pipette) ขนาด 1 2 5 10 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

8) บิวเรต (Buret) และขาตั้งบิวเรต

9) กรวยแก้ว (funnel)

10) กระบอกตวง (Graduate cylinder) ขนาด 10 100 250 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

11) ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ

12) แท่งแก้ว (Stirring rod) ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

13) หลอดหยดสาร (Dropper) ยี่ห้อ Pyrex บริษัท Bibby ประเทศอังกฤษ

3.1.2 อุปกรณ์

1) ห่วงเขี่ยเชื้อ (Loop)

2) ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)

3) ปากคีบ (Forcept)

4) ช้อนตักสาร (Spatular)

5) หลอดไมโคร (Micro tube)

6) เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น Testr 10 บริษัท Oakton ประเทศอังกฤษ

7) กระดาษฟอยล์ (Foil paper)

8) พาราฟิล์ม (Para film)

9) สำลี

10) ตะเกียงแอลกฮอล์

11) เครื่องชั่งละเอียด (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) รุ่น AE - 200 บริษัท Mettler ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

12) กล้องจุลทรรศน์ (microscope compound)

13) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)

14) ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)

15) ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)

16) ตู้เย็น (Refrigerator)

17) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) รุ่น LS-2D บริษัท Rexell Industries ประเทศไต้หวัน

18) กระบอกใส่ปิเปต (Pipette container)

19) กล่องใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อ

20) ขวดน้ำกลั่น

21) แปรงล้างขวดและน้ำยาล้างจาน

22) เครื่องสเปคโตโฟโตมิเตอร์ (Spectophotometer) รุ่น Spectronic 21 บริษัท Milton Rok Company ประเทศสหรัฐอเมริกา

23) เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง พีเค 131อาร์ (centrifuge PK 131 R) ประเทศฝรั่งเศส

24) คอ๊คบอเลอร์ (Cork borer)

25) ไมโครปิเปต (Micro pipette) ยี่ห้อ Eppendorf ประเทศเยอรมัน

3.1.3 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

1) โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) บริษัทวิทยาศรม จำกัด ประเทศไทย

2) โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) บริษัทวิทยาศรม จำกัด ประเทศไทย

3) ไฮโดรคลอริก (HCl) บริษัทวิทยาศรม จำกัด ประเทศไทย

4) คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet) บริษัท Fluka Chemie ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

5) ไอโอดีน (Iodine) บริษัท APS Ajex Finechem ประเทศออสเตรเลีย

6) แอลกอฮอล์เข้มข้น (Alcohol) 95 เปอร์เซนต์ โรงกลั่นอยุธยา

7) ซาฟรานิน โอ (Safranin O) บริษัท Fluka Chemie ประเทศสวิสเซอร์แลนด์

8) น้ำมันอิมเมอชั่น (Immersion oil) บริษัท Carlo erba

9) กลีเซอรอล (Glycerol) บริษัท APS Ajex Finechem ประเทศออสเตรเลีย

10) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ บริษัท Carlo erba

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดดีแมนโรโกซาเชฟ (เอ็มอาร์เอส) อาการ์ (de Mann Rogosa Sharpe (MRS) agar) บริษัท Hi Media Laboratories ประเทศอินเดีย

2) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวดีแมนโรโกซาเชฟ (เอ็มอาร์เอส) บรอท (de Mann Rogosa Sharpe (MRS) broth) บริษัท Hi Media Laboratories ประเทศอินเดีย

3) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนิวเทรียน (เอ็นเอ) อาการ์ (Nutrient agar (NA)) บริษัท Hi Media Laboratories ประเทศอินเดีย

4) อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดนิวเทรียน (เอ็นบี) บรอท (Nutrient broth (NB)) Hi Media Laboratories ประเทศอินเดีย

3.1.5 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ

1) *Escherichia coli* TISTR 073

2) *Bacillus subtilis* TISTR 001

3) *Staphylococcus aureus* TISTR 517

3.1.6 ตัวอย่างที่ใช้ในการแยกแบคทีเรียแลคติก

1) หอยดอง มาจากในห้างสรรพสินค้า ฟิวเจอร์ปาร์คบางแค

2) แหนม มาจากบริเวณข้างห้างสรรพสินค้า เดอะ มอลล์ บางแค

3) แหนม ยี่ห้อ ห้วยแก้ว

4) ปลาส้ม ยี่ห้อ คุณยายทองวัน

5) ไส้กรอกอีสาน มาจากบริเวณข้างห้างสรรพสินค้า เดอะ มอลล์ บางแค

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การแยกแบคทีเรียแลคติกจากตัวอย่างอาหาร และการทำเชื้อให้บริสุทธิ์

3.2.1.1 นำตัวอย่างอาหาร 25 กรัมหรือมิลลิลิตร ใส่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.85 เปอร์เซนต์ (0.85% NaCl) ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ จะได้ความเจือจางที่ 10^{-1}

3.2.1.2 ทำการเจือจางจนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซนต์

3.2.1.3 ทำการโพเพลท (pour plate) ในอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.1.4 รีสตีท (restreak) อีกครั้งหนึ่ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.1.5 นำไปตรวจดูลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Bell et al., 2005)

3.2.2 การเก็บรักษาแบคทีเรียแลคติกโดยการแช่แข็ง

3.2.2.1 เลือกเชื้อโคโลนีเดี่ยวๆ เลี้ยงไว้บนอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เก็บไว้ที่ 4-10 องศาเซลเซียส ในห้องเย็น หรือตู้เย็น

3.2.2.2 เลือกโคโลนีเดี่ยวๆ ใส่ในกลีเซอรอล ความเข้มข้น 30 เปอร์เซนต์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส

3.2.3 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

เตรียมเชื้อโดยการเลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นำโคโลนีเดี่ยว (single colony) มาตรวจสอบการติดสีแกรม (Bell et al., 2005) สังเกตรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ โดยใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า

3.2.4 ศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์แคตาเลส

นำลูป (loop) เขี่ยโคโลนีที่เจริญบนอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ลงบนสไลด์ที่สะอาด หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เข้มข้น 3 เปอร์เซนต์ ลงบนโคโลนีของเชื้อทดสอบ

ถ้ามีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นบวก แสดงว่าเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส

ถ้าไม่มีฟองก๊าซเกิดขึ้น ให้ผลเป็นลบ แสดงว่าเชื้อไม่สามารถผลิตเอนไซม์แคตาเลส

3.2.5 การตรวจหาแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อทดสอบ

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากข้อ 3.2.1 นำมาทดสอบความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อ โดยทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Tagg and McGiven (1971)

3.2.5.1 การเตรียมเชื้อทดสอบ

เชื้อที่ใช้ทดสอบได้แก่ *Escherichia coli, Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus*

3.2.5.1.1 เลี้ยงเชื้อทดสอบในอาหารนิวเทรียนบรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.5.1.2 เจือจางเชื้อให้มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมีค่าความขุ่น (optical density (O.D.)) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เท่ากับ 0.3 แล้วนำเชื้อทดสอบที่เจือจางแล้วปริมาตร 1 มิลลิลิตร ไปทำการโพเพลท บนอาหารนิวเทรียนอาการ์ และนำมาบ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.5.2 การเตรียมสารยับยั้งจากแบคทีเรียแลคติก

3.2.5.2.1 นำเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากข้อ 3.2.1 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอสบรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.5.2.2 นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอสบรอท จากข้อ 3.2.5.2.1 วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วยอาหารเอ็มอาร์เอสบรอทจนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.5.2.3 ปิเปตสารละลายเชื้อ 3 มิลลิลิตร ลงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงเอาเซลล์จุลินทรีย์ออกไปด้วยความเร็ว 9,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปทำการทดสอบต่อไป

3.2.5.3 การทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบโดยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์ ดัดแปลงมาจากวิธีของ Tagg and McGiven (1971)

3.2.5.3.1 ในการทดสอบจะใช้คอ๊คบอเลอร์เจาะวุ้นจากจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการสเพรดเพลต (spread plate) เชื้อทดสอบ (มีเส้นผ่านศูนย์กลาง เท่ากับ 0.5 เซนติเมตร) แล้วใช้ไมโครปิเปตดูดสารละลายเชื้อ (ในข้อ 4.5.2.3) ใส่ลงในหลุม 50 ไมโครลิตร ปล่อยให้สารละลายส่วนใสซึมเข้าไปในวุ้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.2.5.3.2 ตรวจสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยั้บยั้ง (Inhibition zone)

3.2.6 การหาความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เชื้อผลิตได้

3.2.6.1 นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากวิธีการทดลองในข้อ 3.2.5 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วย เอ็มอาร์เอส บรอท จนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.6.2 ปิเปตสารละลายเชื้อจากข้อ 3.2.6.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในอาหารเอ็มอาร์เอสบรอท ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงเอาเซลล์ จุลินทรีย์ออกไปด้วยความเร็ว 9,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปทำการทดสอบต่อไป

3.2.6.3 นำส่วนใสในข้อ 3.2.6.2 นำไปไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล (AOAC., 1990)โดยใช้ฟีนอลทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

คำนวณหาเปอร์เซนต์กรด

เปอร์เซนต์กรดแลคติก = (น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก x ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ x ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ x 100)/(1,000 x ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้)

3.2.7 ศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยกรดแลคติกบริสุทธิ์

เตรียมกรดแลคติกบริสุทธิ์ความเข้มข้นตามที่เชื้อบริสุทธิผลิตได้ ทำการทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ โดยทำการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 3.2.5 โดยใช้กรดแลคติกบริสุทธิ์แทนสารละลายเชื้อแบคทีเรียแลคติก

3.2.8 ศึกษาความสามารถในการผลิตสารยับยั้งของแบคทีเรียแลคติก

3.2.8.1 อุณหภูมิ

ดัดแปลงตามวิธีของ Nowroozi, J et al (2004)

3.2.8.1.1 นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากวิธีการทดลองในข้อ 3.2.5 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วยอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท จนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.8.1.2 นำสารละลายเชื้อจากข้อ 3.2.8.1.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอสบรอท 100 มิลลิลิตร

3.2.8.1.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.8.1.4 วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และ ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียแลคติก โดยทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์

3.2.8.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ดัดแปลงตามวิธีของ Nowroozi, J et al (2004)

3.2.8.2.1 นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากวิธีการทดลองในข้อ 3.2.5 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่น ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วย เอ็มอาร์เอสบรอท จนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.8.2.2 นำสารละลายเชื้อจากข้อ 3.2.8.2.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอสบรอท 100 มิลลิลิตร ซึ่งปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3, 5, 7, 9, 11 ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริค เข้มข้น 0.1 นอร์มอล และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

3.2.8.2.3 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2.8.2.4 วัดค่าความขุ่น ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร และ ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียแลคติก โดยทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์

3.2.9 ศึกษาความไวของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติก

การทดสอบความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติกต่อความร้อนและเอนไซม์โปรติโอไลติกเปรียบเทียบกับแบคเทอริโอซินทางการค้า

3.2.9.1 ความร้อน

ดัดแปลงตามวิธีของ Rattanachaikunsopon, P. et al (2000)

3.2.9.1.1 นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากวิธีการทดลองในข้อ 3.2.5 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วยอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท จนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.9.1.2 ปิเปตสารละลายเชื้อจากข้อ 3.2.9.1.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงเอาเซลล์จุลินทรีย์ออกไป นำส่วนใสไปทำการทดสอบต่อไป

3.2.9.1.3 นำส่วนใส และแบคเทอรีโอซินทางการค้า คือ ไนซินที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ไปให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที

3.2.9.1.4 ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียแลคติก และแบคเทอริโอซินทางการค้า โดยทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์

3.2.9.2 เอนไซม์โปรติโอไลติก

ดัดแปลงตามวิธีของ Kojic, M. et al (1991) และRattanachaikunsopon, P. et al (2000)

3.2.9.2.1 นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จากวิธีการทดลองในข้อ 3.2.5 เลี้ยงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง วัดค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร เจือจางด้วยอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท จนได้ค่าความขุ่น เท่ากับ 0.3

3.2.9.2.2 ปิเปตสารละลายเชื้อจากข้อ 3.2.9.2.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในอาหารเอ็มอาร์เอส บรอท ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงเอาเซลล์จุลินทรีย์ออกไป นำส่วนใสไปทำการทดสอบต่อไป

3.2.9.2.3 นำส่วนใส และแบคเทอริโอซินทางการค้า คือ ไนซินที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เติมด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติก (ทริปซิน และ โปรติเนส เค) จนได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร บ่มส่วนผสมที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3.2.9.2.4 ทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียของแบคทีเรียแลคติก และแบคเทอริโอซินทางการค้า โดยทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดิฟฟิวชันแอสเซย์