

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกจากทางเดินอาหารสัตว์ทะเลจำนวน 24 ตัวอย่าง สามารถคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค (*E. coli*) ได้ 160 สายพันธุ์ สามารถแยกมาจากตัวอย่างทางเดินอาหารปลาที่ต้งมากที่สุด คือ 28 สายพันธุ์ และรองลงมาเป็นตัวอย่างจาก ปลาकुทะเล และหอยแมลงภู่ ซึ่งสามารถแยกได้ 19 สายพันธุ์ทั้ง 2 ตัวอย่าง หลังจากนั้น นำแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ทั้ง 160 สายพันธุ์ มาทดสอบคุณสมบัติการเป็น โปรไบโอติก ซึ่งจะทดสอบการทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้น 2000, 3000 และ 4000 พีพีเอ็ม พบว่ามีเพียง 19 สายพันธุ์ ที่สามารถทนต่อความเข้มข้นเกลือน้ำดีที่ 4000 พีพีเอ็ม ได้ หลังจากการนำแบคทีเรียแลคติกทั้ง 19 สายพันธุ์มาทดสอบการทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหารที่พีเอช 1, 2, 2.5 และ 3 พบว่าทั้ง 19 สายพันธุ์ ไม่สามารถทนต่อพีเอช 1 ได้ และทนพีเอช 2.5 ได้มี 6 สายพันธุ์ และทน พีเอช 2 ได้ 1 ชั่วโมง มี 3 สายพันธุ์ ดังนั้น จึงคัดเลือกทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่สามารถทนต่อพีเอช 2 ได้ ไปทดสอบกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ คือ *S. aureus*, *E. coli*, *Lis. monocytogenes* และ *Salmonella* sp. โดยใช้วิธี agar well diffusion พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ ทั้ง 4 สายพันธุ์ ซึ่งสามารถยับยั้ง *Lis. monocytogenes* สูงสุด ในทุกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งมีวงใสในการยับยั้งอยู่ในช่วง 14.80-17.80 มิลลิเมตร เมื่อนำแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ไปจัดจำแนกสายพันธุ์โดยวิเคราะห์ลำดับเบสของ 16s rDNA พบว่าเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *P. pentosaceus* APa4, *P. pentosaceus* AIa1 และ *Ent. faecium* ARa1 ซึ่งแยกมาจาก *Leiognathus eguulus*, *Nibier soldado* และ *Miyakea neap* ตามลำดับ

จากการนำพืชอาหารประเภทหัวจำนวน 12 ชนิด มาอบแห้งที่ 55 องศาเซลเซียส และนำไปสกัดด้วย 50 เปอร์เซ็นต์เอทานอล และเมื่อนำไปสกัดเอทานอลและนำสารละลายที่ได้ไปทำแห้ง พบว่าบิทูทและมันเทศสีส้มมีน้ำหนักแห้ง 61.5 เปอร์เซ็นต์ ของทั้ง 2 สารสกัด รองลงเป็น หัวไชเท้า และแครอทซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 40.14 และ 36.51 เปอร์เซ็นต์ และเผือกมีเปอร์เซ็นต์ สารสกัดที่ได้ น้อยที่สุดซึ่งมีเท่ากับ 3.93 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำสารสกัดเอทานอลทั้ง 12 ชนิด มาทดสอบคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกโดยการทดสอบการทนต่อทางเดินอาหารส่วนบน ซึ่งจะเป็น การทดสอบการทนต่อกรด และการทนต่อเอนไซม์ในลำไส้เล็กพบว่าสารสกัดส่วนใหญ่มี เปอร์เซ็นต์การถูกย่อยสูงกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ ยกเว้นสารสกัดจากเผือก มันเทศสีม่วงเปลือกแดง บิทูท มันฝรั่ง และมันเทศสีม่วงเปลือกเหลืองที่ถูกย่อยได้แค่ 17.47, 9.28, 5.04, 2.81 และ 1.69 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดเอทานอลจากหัว มันสีขาวเปลือกแดง มันจีหนู มันแก้ว

หัวไชเท้า มันสีส้ม และแครอท มีเปอร์เซ็นต์การถูกย่อยได้ถึง 64.49, 54.51, 39.56, 35.86, 31.78, 28.13 และ 26.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หลังจากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดเอทานอลที่สามารถทนต่อการย่อยด้วยกรดที่พีเอช 1 ที่มีเปอร์เซ็นต์การย่อยต่ำกว่า 20 เปอร์เซ็นต์ มาทดสอบความสามารถการทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase ในลำไส้เล็ก พบว่าสารสกัดเอทานอลที่นำมาทดสอบสามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ได้ดี โดยมีเปอร์เซ็นต์การถูกย่อยต่ำมาก คือมีเปอร์เซ็นต์การถูกย่อยต่ำกว่า 11 เปอร์เซ็นต์ โดยสารสกัดจากเผือกมีเปอร์เซ็นต์การถูกย่อยสูงที่สุด คือ 10.81 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา เป็นสารสกัดจากบิทูท มันฝรั่ง มันเทศสีม่วงเปลือกแดง และ มันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การถูกย่อย เป็น 4.94, 2.13, 1.50 และ 1.17 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนพบว่า มีเพียงสารสกัดเอทานอลจาก มันเทศสีม่วงเปลือกแดง บิทูท มันฝรั่ง และมันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง ที่มีองค์ประกอบของสารที่ไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมสามารถเหลือไปถึงลำไส้ใหญ่มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดเอทานอลทั้ง 4 ชนิด ที่คัดเลือกได้สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ดีที่สุด สามารถส่งเสริมการเจริญได้ถึง 4.01, 3.56, 2.88 และ 2.85 log CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบในสารสกัดเอทานอลจากมันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มันเทศสีม่วงเปลือกแดง และ มันฝรั่ง ตามลำดับ ซึ่งพีเอชในระหว่างการเลี้ยงลดลงอยู่ในช่วง 3.0-4.0 เมื่อนำส่วนใสที่ได้จากการเจริญสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค *E. coli*, *S. aureus* และ *Salmonella* sp. ได้ และเมื่อศึกษาการเจริญร่วมกันของ *L. plantarum* กับ แบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า *L. plantarum* สามารถเจริญได้ดีกว่าแบคทีเรียก่อโรค และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 3 สายพันธุ์ได้

เมื่อนำสารสกัดเอทานอลจากมันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มันเทศสีม่วงเปลือกแดง และ มันฝรั่ง มาวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุล พบว่าน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของสารสกัดทั้ง 4 ชนิด อยู่ในช่วง 464-4735 ดาลตัน และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบน่าจะเป็นกลุ่มของ กลูโคสและฟรุคโตส