

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

เก็บตัวอย่างอาหารหมักพื้นบ้านจากพืชโดยเก็บจากตลาดสดและจากการหมักดองของชาวบ้านในจังหวัดปัตตานีและนราธิวาสจำนวน 9 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ผักเสี้ยนดอง สะตอดอง หน่อไม้ดอง และกะหล่ำปลีดอง ทำการคัดแยกยีสต์ให้บริสุทธิ์แล้วเลือกโคโลนีแต่ละตัวอย่างจำนวน 8-10 โคโลนี พบว่า สามารถคัดแยกยีสต์ได้จำนวน 82 ไอโซเลต โดยได้จากตัวอย่าง ผักเสี้ยนดอง 20 ไอโซเลต สะตอดอง 18 ไอโซเลต หน่อไม้ดอง 24 ไอโซเลต และกะหล่ำดอง 20 ไอโซเลต เมื่อทำการทดสอบการเป็นคิลเลอร์ต่อยีสต์ที่มีความว่องไวจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Candida tropicalis* TISTR 5045, *Hansenula anomala* TISTR 5113, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5020, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5055 และ *Torulopsis glabrata* TISTR 5241 โดยใช้อาหาร YPD ที่เติม methylene blue ร้อยละ 0.0003 พบว่ายีสต์ที่คัดแยกได้สามารถยับยั้งยีสต์ที่มีความว่องไวจำนวน 4-5 สายพันธุ์ จำนวน 13 ไอโซเลต ได้แก่ W 02, W 03, W 06, W 07, W09, W10, C 07, C 09, C 10, C 12, B 17, B 18 และ B 19 เมื่อนำยีสต์ที่สามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ที่มีความว่องไวทั้ง 13 สายพันธุ์มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหารจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* TISTR 887, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Bacillus cereus* TISTR 868 โดยใช้เอทานอลร้อยละ 70 เป็นชุดควบคุม พบว่า ยีสต์ที่มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคมียังมีจำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ W02, W03, W06, W07, W09 และ W10

เมื่อนำคิลเลอร์ยีสต์ไอโซเลต W02, W03, W06, W07, W09 และ W10 มาศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตคิลเลอร์ที่ออกซิน โดยทำการศึกษาชนิดของอาหาร พีเอช อุณหภูมิ ความเข้มข้นของเกลือ และระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตคิลเลอร์ที่ออกซินพบว่า ชนิดของอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตคิลเลอร์ที่ออกซินคือ YPD พีเอช 5.0 เติมเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 และเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกคิลเลอร์ยีสต์ที่สามารถเกิดกิจกรรมการยับยั้งได้ดีและยับยั้งได้หลายสายพันธุ์ พบว่า คิลเลอร์ยีสต์ไอโซเลต W07 และ W09 สามารถเกิดกิจกรรมการยับยั้งได้ดีและหลายสายพันธุ์ โดยคิลเลอร์ยีสต์ไอโซเลต W07 จะมีขนาดวงใสของการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคชนิด *Escherichia coli* TISTR 887, *Salmonella typhimurium* TISTR 292, *Staphylococcus aureus* TISTR 118 และ *Bacillus cereus* TISTR 868 เท่ากับ 6.3, 6.7, 6.3 และ 6.3 มิลลิเมตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 42.1, 35.7, 42.6 และ 42.2 ส่วนไอโซเลต W09 จะมีขนาดวงใสของการยับยั้งเท่ากับ 6.2, 6.4, 6.4 และ 6.3 มิลลิเมตร คิดเป็นร้อยละ 41.6, 34.4, 43.8 และ

42.2 ตามลำดับ เมื่อทำการจำแนกสายพันธุ์พบว่า คิลเลอร์ยีสต์ไอโซเลต W07 และ W09 เป็น คิลเลอร์ยีสต์ชนิดเดียวกัน คือ *Candida krusei* โดยจะมีโคโลนีสีขาวนวลและมีรูปร่างหลายแบบ ได้แก่ ชนิดกลม ท่อน และท่อนต่อกันเป็นสาย จากนั้นเลือกคิลเลอร์ยีสต์ไอโซเลต W07 เลี้ยงในอาหารที่เหมาะสมแล้วนำคิลเลอร์ที่ออกซินที่ได้มาทำให้บริสุทธิ์บางส่วน โดยทำการคัดแยกขนาด น้ำหนักโมเลกุลที่น้อยกว่าและมากกว่า 10 kDa ตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 70 แล้วนำคิลเลอร์ที่ออกซินที่ได้มาทดสอบความคงตัวที่สภาวะต่างๆ คือ พีเอช อุณหภูมิ และความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ โดยคิลเลอร์ที่ออกซินที่ได้จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคนชนิด *B. cereus* TISTR 868 ได้ดีที่สุดและนำมาศึกษาความคงตัวพบว่า คิลเลอร์ที่ออกซินจะสามารถคงตัวได้ที่อุณหภูมิ 30-50 องศาเซลเซียส และพีเอช 3.33-4.02 โดยกิจกรรมการยับยั้งจะไม่ลดลง เมื่อศึกษาสภาวะตัวของคิลเลอร์ที่ออกซินในอาหารที่มีการเติมเกลือ พบว่า การเติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 3 จะเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งได้มากยิ่งขึ้น โดยจะให้ขนาดวงใสที่กว้างและชัดเจนมากขึ้น ส่วนที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลที่น้อยกว่าและมากกว่า 10 kDa จะมีขนาดวงใสและกิจกรรมการยับยั้ง *B. cereus* TISTR 868 เท่ากับ 14.5 มิลลิเมตร และร้อยละ 64.4 ตามลำดับ และการเติมโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 6 พบว่า *B. cereus* TISTR 868 ไม่มีการเจริญเติบโต แต่แบคทีเรียก่อโรคนชนิด *S. aureus* TISTR 118 จะถูกยับยั้งโดยคิลเลอร์ที่ออกซินที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า และ มากกว่า 10 kDa โดยมีขนาดวงใสเท่ากับ 10.0 และ 11.5 คัดเป็นร้อยละ 52.6 และ 60.5 ตามลำดับ