4. สรุป

จากการนำเชื้อ *Lactobacillus* 4 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านของไทยได้แก่ *Lactobacillus* sp. A2, *L. plantarum* A49a, *L. plantarum* A61a และ *Lactobacillus* sp. P5 มาศึกษาการสร้างสารยับยั้งต่อเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 พบว่าเมื่อเลี้ยงในฟลาสก์ เชื้อ *L. plantarum* A49a, *L. plantarum* A61a และ *Lactobacillus* sp. P5 สามารถสร้างสารยับยั้งได้มากที่สุดเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 °ซ ไม่มีการเขย่า ในขณะที่เชื้อ *Lactobacillus* sp. A2 สร้างสารยับยั้งได้มากที่สุดเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 °ซ มีการเขย่า 150 rpm

เมื่อนำเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ มาเลี้ยงโดยใช้อาหารชนิดต่างๆ พบว่า ทุกสายพันธุ์สามารถสร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดในอาหาร MRS และอาหาร CJ ทั้งที่เป็นอาหารแข็งและในอาหารเหลว เชื้อให้ขนาดขอบวงใสการยับยั้งมากที่สุดเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ในอาหาร MRS ที่มีน้ำตาลกลูโคส 2 % นอกจากนี้เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการจำกัดทั้งกรดอินทรีย์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เชื้อยังคงมีความสามารถในการสร้างสารยับยั้ง

ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ เมื่อทำการทดสอบโดยวิธี agar spot assay และ agar well diffusion assay พบว่าเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้แก่ *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* 1189 และ *S. typhi* 3299 ได้มากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ใกล้เคียง ได้แก่ *L. fermentum* TISTR 879, *L. curvarus* TISTR 938, *L. fermentum* TISTR 914 และ *L. plantarum* TISTR 877

เมื่อนำเชื้อ *Lactobacillus* sp. A2, *L. plantarum* A49a และ *L. plantarum* A61a มาศึกษาการเจริญและการสร้างสารยับยั้ง พบว่า รูปแบบการเจริญและการสร้างสารยับยั้งของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มีความสัมพันธ์กัน คือการสร้างสารยับยั้งเพิ่มมากขึ้นเมื่อเชื้อมีการเจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น โดยทุกสายพันธุ์สามารถสร้างสารยับยั้งได้ตั้งแต่เจริญอยู่ในระยะ log และสร้างสารยับยั้งได้มากที่สุดในระยะที่เข้าสู่การเจริญคงที่

เชื้อ *L. plantarum* A49a ซึ่งเป็นเชื้อที่มีความสามารถในการเจริญและการสร้างสารยับยั้งสูงสุดถูกเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหาร MRS และ อาหาร CJ พบว่าเชื้อสามารถเจริญและสร้างสารยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน

เมื่อนำ culture broth ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* A49a ในอาหาร MRS มาตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า ตะกอนที่ได้จากความเข้มข้น 50-70 % มีความสามารถในการยับยั้งสูงที่สุดและตะกอนส่วนนี้มีสารยับยั้งที่เป็นโปรตีนอยู่ด้วย เนื่องจากเมื่อทดสอบด้วยเอนไซม์ trypsin แล้วขอบวงใสการยับยั้งลดลง

สารยับยั้งที่ได้จากเชื้อ *L. plantarum* A49a เมื่อนำมาทดสอบด้วยเอนไซม์ต่างๆ พบว่า ไวต่อเอนไซม์ catalase และเอนไซม์ย่อยโปรตีน ได้แก่ pepsin, trypsin, α-chymotrypsin, protease และ proteinase-K แต่ไม่ไวต่อเอนไซม์ α-amylase นอกจากนี้ยังทนต่อความร้อนตั้งแต่ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที จนถึง 121°ซ เป็นเวลา 15 นาที

เมื่อบ่มเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ร่วมกับ culture broth ที่ได้จากเชื้อ *L. plantarum* A49a ที่ทำให้เข้มข้นขึ้น 10 เท่า แล้วนำมานับจำนวนเชื้อรอดชีวิดพบว่าสารยับยั้งสามารถทำลายเชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ได้หมดภายในเวลา 4 ชั่วโมง

จากการเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* A49a ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหาร CJ broth ปริมาตร 3.5 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิ 30 °ซ พบว่าเชื้อสามารถเจริญและสร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดในสภาวะที่ไม่ควบคุม pH, มีอัตราการกวน 80 rpm และให้อากาศ 0.5 vvm โดยเมื่อเปรียบเทียบกับการเลี้ยงเชื้อสายพันธุ์นี้ในฟลาสก์ พบว่า การเลี้ยงในถังหมักเชื้อเจริญเข้าสู่ระยะ log ได้เร็วกว่าและสร้างสารยับยั้งได้สูงสุดที่เวลา 22 ชั่วโมง ส่วนเมื่อเลี้ยงในฟลาสก์เชื้อสร้างสารยับยั้งได้มากที่สุด ที่เวลา 30 ชั่วโมง

ข้อเสนอแนะ

1. เชื้อ *Lactobacillus* ที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านของไทยที่นำมาศึกษามีความสามารถในการทำลายเชื้อแบคทีเรียอื่นได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ดังนั้นจึงควร

มีการศึกษาการนำเชื้อเหล่านี้ไปใช้เป็น starter culture ในอาหารหมักต่างๆ เพื่อยกระดับคุณภาพของอาหารหมักพื้นบ้านให้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น มีมาตรฐานทั้งด้านความปลอดภัย รสชาติ สี กลิ่น และความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ ลดเวลาการผลิตและเพิ่มผลผลิตให้มากขึ้น

2. ควรมีการศึกษาเพื่อคัดแยกให้ได้แบคทีเรียแลกติกที่มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งที่เป็นโปรตีนในปริมาณสูงกว่านี้เพื่อทำการผลิตในระดับที่สามารถนำมาใช้ได้