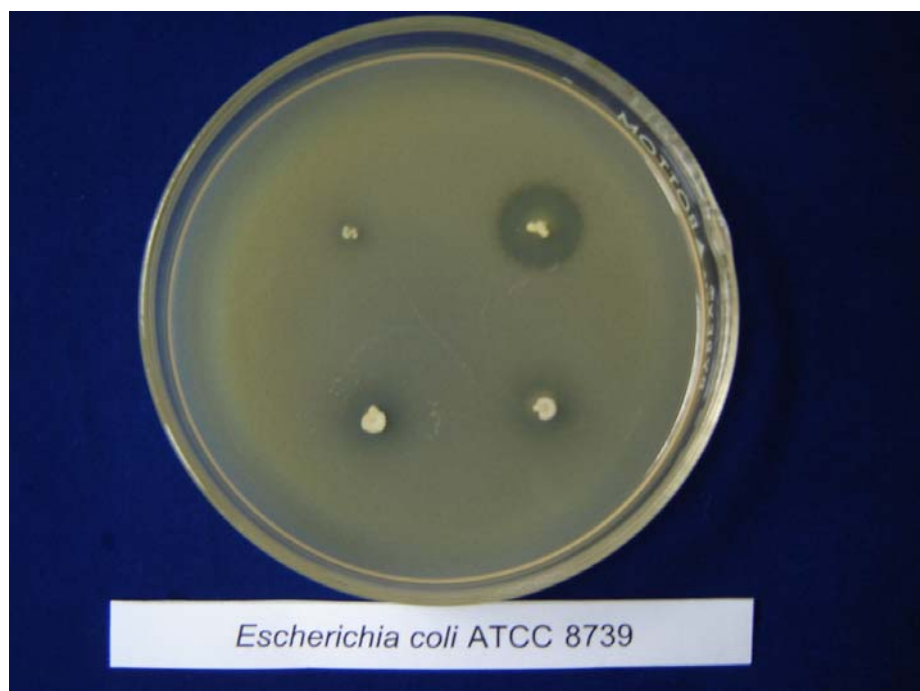




ภาพที่ 4 ลักษณะการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี Agar spot test

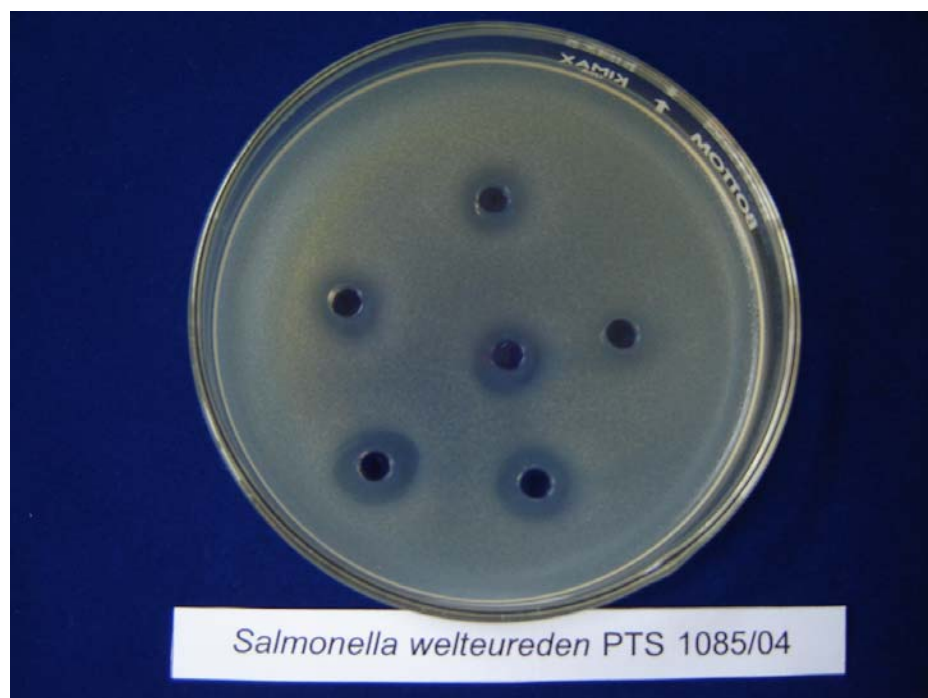
1.2 การตรวจสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Agar well diffusion

เมื่อนำแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 7 ไอโซเลท มาตรวจสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธี Agar well diffusion โดยการนำสารละลายไอของทั้ง 7 ไอโซเลท ที่ไม่ได้ทำการปรับพีเอช และที่ทำการปรับพีเอชเป็น 6.5 มาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. coli* ATCC 8739, *E. coli* O157:H7 DMST 12743, *Salmonella* sp.2, *S. Enteritidis* SOO3, *S. Typhimurium* DMST 16809 และ *Enterococcus faecalis* TISTR 379 โดยพิจารณาจากวงใสรอบหลุมที่เจาะในอาหารวุ้น ผลการยับยั้งโดยสารละลายไอที่ได้ทำการปรับพีเอช จากการทดสอบจำนวน 3 ครั้ง ผลการทดสอบครั้งแรกพบว่า แบคทีเรียกรดแลคติก 5 ไอโซเลท ได้แก่ IG-8, PR-2, IFS-1, MG-2 และ IG-3 สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ลักษณะการยับยั้งดังภาพที่ 5 ความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของแบคทีเรียทั้ง 5 ไอโซเลทมีความแตกต่างกัน ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4 สำหรับไอโซเลท MS-1 สามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เพียง 2 สายพันธุ์ คือ *S. Enteritidis* SOO3 และ *Ent. faecalis* TISTR 379 ไอโซเลท IG-5 ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้เพียงสายพันธุ์เดียว คือ *S. Enteritidis* SOO3 เมื่อทำการทดสอบครั้งที่ 2 และ 3 พบว่าไอโซเลท PR-2, IFS-1, MG-2 และ IG-3 ยังคงมีความสามารถในการ

ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้ทั้ง 6 สายพันธุ์ ในขณะที่ไอโซเลท MS-1, IG-5 และ IG-8 สูญเสียความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ และเมื่อทำการตรวจสอบการยับยั้งจุลชีพโดยการนำสารละลายไปมาทำการปรับพีเอชเป็น 6.5 เพื่อลดผลของการยับยั้งโดยกรดอินทรีย์นั้น ไม่พบกิจกรรมการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 7 ไอโซเลท

เมื่อพิจารณาความสามารถของแบคทีเรียกรดแลคติกในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ สันนิษฐานว่า เกิดจากกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก (lactic) หรือ กรดอะซิติก (acetic) ที่เชื้อผลิตขึ้นในกระบวนการหมัก ซึ่งการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นผลมาจากกรดอินทรีย์นั้น มีความสัมพันธ์กับปริมาณของกรดที่ไม่แตกตัวมากกว่ากรดที่แตกตัว เนื่องจากกรดอินทรีย์เมื่ออยู่ในรูปไม่แตกตัวจะสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ และเกิดการแตกตัวของกรดภายในเซลล์ให้ประจุลบและโปรตอน ส่งผลให้เกิดการยับยั้งกระบวนการเมแทบอลิซึมที่จำเป็นต่อเซลล์ของจุลินทรีย์ (Baird-Parker, 1980; Bearso *et al.*, 1997; Adams and Hall, 1988) หรืออาจเกิดจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เนื่องจากการทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ครั้งนี้ทำการเพาะเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีอากาศ แบคทีเรียกรดแลคติกจึงอาจมีการสร้าง และหลั่งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกมา (Seki *et al.*, 2004) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่มีสมบัติเป็นด่างออกซิไดส์ที่รุนแรง มีผลต่อเซลล์แบคทีเรีย สามารถทำลายโมเลกุลกรดนิวคลีอิก และโปรตีนได้ (Gilliland and Speck, 1977; Dahl *et al.*, 1989) นอกจากนี้การยับยั้งที่เกิดขึ้นอาจเกิดจากผลร่วมระหว่างกรดแลคติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Dahiya and Speck, 1968; Collins and Aramaki, 1980) หรือเกิดจากการที่แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างสารต่อต้านจุลชีพที่มีมวลโมเลกุลต่ำได้

เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ จากการตรวจสอบทั้ง 2 วิธี พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ไอโซเลท ได้แก่ PR-2, IFS-1, MG-2 และ IG-3 มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 6 สายพันธุ์ได้ ทั้งจากการใช้เซลล์ของแบคทีเรียโดยตรง และการใช้สารละลายที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ในการยับยั้ง ดังนั้นจึงได้นำแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 4 ไอโซเลทมาทำการจัดจำแนกสายพันธุ์ และทดสอบสมบัติต่างๆเพื่อนำมาใช้เป็นโปรไบโอติกในไก่กระทงต่อไป



ภาพที่ 5 ลักษณะการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบโดยสารละลายไฮ เมื่อทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion