

## บทที่ 5

### สรุปผลและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

คัดแยก *Bacillus* จากลำไส้ไก่สุกสภาพดีจำนวน 40 ตัวอย่าง ได้ทั้งหมด 85 สายพันธุ์ นำไปคัดเลือกลูกหา *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรค *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ด้วยวิธี Agar Well Diffusion พบว่า *Bacillus* spp. สายพันธุ์ที่ 02, 04 และ 26 มีความสามารถในการสร้างสารยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งสองชนิดได้สูงที่สุด เมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ช่วยย่อย ได้แก่ เอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส เซลลูเลส และไลเปส พบว่า สายพันธุ์ 04 มีประสิทธิภาพสูงที่สุด

*Bacillus* B04 สามารถเคลื่อนที่ได้ในอาหาร Motility Test Medium และสามารถใช้น้ำตาล Mannitol ในการสร้างกรด จากการส่งตรวจสายพันธุ์พบว่าเป็น *Bacillus subtilis* TISTR 2057 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Bacillus subtilis* B04 คือ 37 องศาเซลเซียส ทนต่อสภาวะกรดต่างได้ตั้งแต่ 2 ถึง 6.5 ซึ่งใกล้เคียงกับในทางเดินอาหารของไก่ โดยในสภาวะความเป็นกรดต่างต่ำกว่า 3 ปริมาณเซลล์มีชีวิตลดลงเพียง 1 log

การผลิต *Bacillus subtilis* B04 ในอาหารอย่างง่ายและราคาถูก พบว่า อาหารที่เตรียมจาก Molasses มีความเหมาะสมที่สุด โดยพิจารณาจากปริมาณเซลล์และความสามารถในการผลิตเอนไซม์ช่วยย่อย และราคาต้นทุน เมื่อเติม Monosodium Glutamate เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหาร Molasses เพื่อเพิ่มการเจริญพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมคือ 5 : 1 และความเข้มข้นสูงสุดที่เหมาะสมคือ 40 g/l : 8 g/l โดยมีค่าความเป็นกรดต่างของอาหารที่เหมาะสมคือ 6.5

การศึกษาการเจริญของ *Bacillus subtilis* B04 ในอาหาร Molasses พบว่าเชื้อมีการเจริญอย่างรวดเร็วและเข้าสู่ระยะ Steady State ที่ชั่วโมงที่ 16 มีปริมาณเซลล์เท่ากับ  $7.950 \times 10^8$  cfu/ml ส่วนเซลล์สปอร์มีปริมาณเพียงเล็กน้อยตั้งแต่เริ่มเพาะเลี้ยงจนถึงชั่วโมงที่ 8 หลังจากนั้นปริมาณเซลล์สปอร์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนเริ่มมีปริมาณคงที่ที่ชั่วโมงที่ 20 โดยมีปริมาณเซลล์สปอร์เท่ากับ  $1.160 \times 10^9$  cfu/ml ซึ่งสอดคล้องกับค่ากรดต่างของอาหารที่เริ่มมีค่ากรดต่างสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ถึงชั่วโมงที่ 28

การผลิต *Bacillus subtilis* B04 ทั้งในรูปแบบเม็ดและผงแห้งใช้เวลาในการอบแห้งที่เหมาะสมเท่ากันคือ 40 นาที โดยได้ปริมาณเซลล์มีชีวิตและความชื้นใกล้เคียงกัน แต่การผลิต *Bacillus subtilis*

B04 ในรูปเม็ดมีขั้นตอนการผลิตและต้องใช้อุปกรณ์ที่ยุ่งยากกว่าการผลิตในรูปผงเชื้อ การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อ *Bacillus subtilis* B04 ในรูปผงแห้งเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า *Bacillus subtilis* B04 ผงแห้ง ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสให้ผลดีว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องทั้งปริมาณเซลล์มีชีวิตและความชื้นของผงเชื้อแห้ง และสามารถใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อการเพาะเลี้ยง โดย *Bacillus subtilis* B04 ที่เพาะเลี้ยงได้สามารถเจริญเติบโตได้ดีและยังคงมีกิจกรรมการผลิตเอนไซม์ช่วยย่อยใกล้เคียงกับเซลล์ปกติที่ไม่ผ่านการทำแห้ง

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ทดสอบความสามารถของ *Bacillus subtilis* B04 ในการเกาะติดผนังลำไส้ไก่

5.2.2 ศึกษาชนิดและองค์ประกอบทางชีวเคมีของสารยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่ผลิตโดย *Bacillus subtilis* B04

5.2.3 เพาะเลี้ยงในสูตรอาหารชนิดอื่นที่เป็นแหล่งอาหารราคาถูก เช่น Corn Steep, Urea และกากถั่วเหลือง เพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ ความสามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อก่อโรค และการสร้างเอนไซม์

5.2.4 ศึกษาการทำเชื้อในรูปผงโดยไม่ต้องอบแห้ง เพื่อลดการบาดเจ็บของเซลล์จากความร้อน ซึ่งส่งผลต่อการใช้เชื้อผงเป็นหัวเชื้อ การผลิตสารยับยั้งเชื้อก่อโรค และการสร้างเอนไซม์