

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างแฮมปลาทราย แฮมปลาชะโด เนื้อปลาทราย และเนื้อปลาชะโดทั้งหมด 15 ตัวอย่าง พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกอยู่ในช่วง 3.0×10^7 ถึงมากกว่า 2.1×10^9 โคโลนีต่อกรัม และได้คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 138 ไอโซเลต นำมาศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Pediococcus acidilactici* TISTR 051, *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451 และ *Listeria monocytogenes* DMST 11256 ด้วยเทคนิค agar spot test พบว่ามีแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 30 ไอโซเลตที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบดังกล่าวได้อย่างน้อย 1 ชนิด โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้งมากที่สุดได้แก่เชื้อ *L. bulgaricus* และเชื้อที่ถูกยับยั้งรองลงมาได้แก่เชื้อ *P. acidilactici* ส่วนเชื้อ *S. aureus* และ *L. monocytogenes* ไม่พบว่ามีแบคทีเรียกรดแลคติกไอโซเลตใดสามารถยับยั้งได้ และเมื่อนำแบคทีเรียกรดแลคติกที่ถูกคัดเลือกมาทดสอบการทนต่อกรดแลคติก กรดไฮโดรคลอริก โซเดียมคลอไรด์ และเกลือน้ำดี ในอาหารเหลว MRS พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถทนต่อกรดแลคติกที่พีเอชต่ำสุด 2.90 แบคทีเรียจำนวน 2 ไอโซเลตทนต่อกรดไฮโดรคลอริกที่พีเอชต่ำสุด 2.20 จำนวน 4 ไอโซเลตทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์สูงสุดร้อยละ 9 จำนวน 2 ไอโซเลต และจำนวน 27 ไอโซเลตทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูงสุดร้อยละ 5.25 และได้คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติก 2 ไอโซเลตมาทำการจำแนกชนิด ซึ่งพบว่า ไอโซเลต 13IS3 คือ *Lactococcus lactis* ที่มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อ *L. bulgaricus* ทนต่อกรดแลคติกที่พีเอช 3.20 กรดไฮโดรคลอริกพีเอช 2.20 โซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 6.00 และเกลือน้ำดีเข้มข้นร้อยละ 5.25 และไอโซเลต 13IS4 คือ *Lactobacillus sakei* ซึ่งมีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อ *P. acidilactici* และ *L. bulgaricus* ทนต่อกรดแลคติกที่พีเอช 2.90 กรดไฮโดรคลอริกพีเอช 2.20 โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 6.00 และเกลือน้ำดีความเข้มข้นร้อยละ 5.25

ในการศึกษาผลของสารป้องกันเซลล์ความเข้มข้นร้อยละ 9.1 ทั้งหมด 8 ชนิด ได้แก่ หางนม นมถั่วเหลือง ไข่แดง ซูโครส แลคโตส กลูโคส ทรีฮาโลส และซอร์บิทอล ต่อการอยู่รอดของเชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *L. lactis* สามารถอยู่รอดได้สูงในแลคโตส หางนม ซูโครส นมถั่วเหลือง และซอร์บิทอล ซึ่งสูงกว่าในทรีฮาโลส กลูโคส และไข่แดง ตามลำดับ ขณะที่เชื้อ *L. sakei* สามารถอยู่รอดได้สูงในหางนม และนมถั่วเหลือง รองลงมาเป็นทรีฮาโลส ซูโครส แลคโตส ซอร์บิทอล ไข่แดง และกลูโคส ตามลำดับและเมื่อคัดเลือกสารป้องกันเซลล์ที่ทำให้เชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตสูงหลังจากแช่แข็งแห้ง 6 ลำดับแรก ซึ่งได้แก่ หางนม นมถั่วเหลือง ซูโครส แลคโตส ทรีฮาโลส และซอร์บิทอล นำมาพัฒนา

เป็นสูตรผสมของสารป้องกันผสมทั้งหมด 9 สูตร จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ *L. lactis* สามารถอยู่รอดได้สูงสุดหลังการแช่แข็งแห้งในสารป้องกันผสมสูตรที่ 8 ซึ่งประกอบด้วยหางนมผง 8.73 กรัม แลคโตส ร้อยละ 3.97 กรัม ซูโครส 3.97 กรัม ทรีฮาโลส 3.97 กรัม และน้ำกลั่น 79.36 กรัม ต่อ 100 กรัม ของส่วนผสมทั้งหมด ซึ่งพบว่าการอยู่รอดร้อยละ 75.86 โดยมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 11.69 ถึง 20.15 เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารป้องกันเซลล์เพียงชนิดเดียว ขณะที่เชื้อ *L. sakei* สามารถอยู่รอดสูงสุดในสูตรสารป้องกันผสมที่ประกอบด้วย หางนมผง 8.73 กรัม แลคโตส 3.97 กรัม ซูโครส 3.97 กรัม ทรีฮาโลส 3.97 กรัม และนมถั่วเหลือง (อัตราส่วน 1:1) 79.40 กรัม ต่อ 100 กรัม ของส่วนผสมทั้งหมด ซึ่งมีการอยู่รอดร้อยละ 74.57 โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตกับการใช้สารป้องกันเซลล์เพียงชนิดเดียวมีปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 9.51 ถึง 18.15

ในการศึกษาผลของการปรับตัวต่อความดันออสโมติกด้วยซูโครสที่มีความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ ในอาหารเหลว MRS การปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ในสารป้องกันเซลล์และไม่ผ่านการปรับตัวต่อการอยู่รอดของเชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* ภายหลังการแช่แข็งแห้งพบว่าเชื้อ *L. lactis* ที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติก ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็น และไม่ผ่านการปรับตัวในสารป้องกันผสมสูตรที่ 8 มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังการแช่แข็งแห้งใกล้เคียงกันคือร้อยละ 73.18, 75.46 และ 75.01 ตามลำดับ ส่วนเชื้อ *L. sakei* ที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติก และปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็นในสารป้องกันผสมสูตรที่ 5 มีการอยู่รอดใกล้เคียงกัน (จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตร้อยละ 79.10 และ 77.22 ตามลำดับ) ซึ่งสูงกว่าเชื้อที่ไม่ผ่านการปรับตัว (จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตร้อยละ 71.27)

จากการศึกษาผลของการปรับตัวต่อความดันออสโมติกด้วยซูโครส (ซูโครส 0.3 โมลาร์ ในอาหารเหลว MRS) และการปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็น (10 องศาเซลเซียส) ต่อการอยู่รอดของเชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* ที่ผ่านการแช่แข็งแห้งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าเชื้อ *L. lactis* ที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติกและเชื้อที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็นมีการอยู่รอดหลังจากแช่แข็งแห้งใกล้เคียงกับเชื้อที่ไม่ผ่านการปรับตัว และพบว่าเชื้อ *L. lactis* ที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติกร่วมกับความเย็นมีการอยู่รอดในระหว่างเก็บรักษาสูงกว่าเชื้อที่ผ่านการปรับตัวต่อความดันออสโมติกและเชื้อที่ไม่ผ่านการปรับตัวเพียงเล็กน้อย ขณะที่เชื้อ *L. sakei* ที่ผ่านการปรับตัวทั้งสองทรีตเมนต์มีการอยู่รอดหลังการแช่แข็งแห้งสูงกว่าเชื้อที่ไม่ผ่านการปรับตัว แต่ในการเก็บรักษาพบว่าเชื้อ *L. sakei* ปรับตัวทั้งสองทรีตเมนต์ไม่ได้มีผลช่วยป้องกันเซลล์ต่อสภาพเครียดจากการแช่แข็งที่อุณหภูมิที่ต่ำมากได้

จากการทดลองนี้ทำให้ทราบถึงเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดีซึ่งได้แก่ เชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* แต่อย่างไรก็ตามความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบของเชื้อ *L. lactis* และเชื้อ *L. sakei* ยังไม่ทราบแน่ชัดว่าเกิดจากการสร้างสารชนิดใด ดังนั้นหากได้ทำการค้นคว้าวิจัยเพิ่มเติมว่าเกิดจากสารชนิดใด สภาวะใดเหมาะต่อการผลิตสารยับยั้ง อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคของเชื้อทั้งสองดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การทดลองในครั้งนี้ทำให้ทราบถึงชนิดของสารป้องกันเซลล์จากการแช่แข็งแห้งและสูตรของสารป้องกันผสมที่ทำให้เชื้อมีการอยู่รอดสูงแม้ผ่านการแช่แข็งแห้ง นอกจากนี้ยังทำให้ทราบถึงผลจากการปรับตัวต่อความดันออสโมติกด้วยซูโครส และความดันออสโมติกร่วมกับความเย็นที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ช่วยเพิ่มความต้านทานต่อการแช่แข็งแห้งและการแช่แข็งเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ให้กับเชื้อ *L. lactis* และ *L. sakei* ได้เพียงเล็กน้อย ดังนั้นหากนำกล้ำเชื้อแบบแช่แข็งแห้งที่ได้จากการทดลองมาทำการหมักปลาเพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อที่แท้จริงรวมทั้งศึกษาถึงคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ปลาหมักที่ได้เช่น กลิ่น สี รสชาติที่เกิดขึ้น อาจทำให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาหมักให้มีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพปราศจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค อีกทั้งมีรสชาติเป็นที่น่าพอใจเพิ่มมากขึ้นอีกด้วย