# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เชื้อ *L. plantarum* LS0602 และ *L. brevis* LT 0904 ผลิตแบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรมของแบคเทอริโอซินต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* เท่ากับ 12,800 AU ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีระดับพีเอชที่เหมาะสมในการสร้างแบคเทอริโอซินอยู่ที่พีเอช 6 และพีเอช 7 ตามลำดับ และ *L. plantarum* LS0602 มีการสร้างแบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ดีที่สุดในอาหารเหลว MRS สูตรปกติที่เติมเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสเป็น 30 กรัมต่อลิตร มีทริปโตน 10 กรัมต่อลิตร และมีไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 กรัมต่อลิตร สำหรับเชื้อ *L. brevis* LT 0904 ควรเลี้ยงในอาหารเหลว MRS สูตรปกติที่เติมกลูโคสเพิ่มเป็น 40 กรัมต่อลิตร มีทริปโตน 10 กรัมต่อลิตร มียีสต์สกัดเพิ่มเป็น 20 กรัมต่อลิตร และมีโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 2 กรัมต่อลิตร เพื่อให้มีกิจกรรมของแบคเทอริโอซินสูงสุด สำหรับวิธีการทำแบคเทอริโอซินให้บริสุทธิ์ปรากฏว่า วิธีที่จะทำให้ได้แบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคสูงสุดจะต้องนำส่วนใสที่ปราศจากเซลล์มาผ่านกระบวนการต่างๆหลายขั้นตอน ตั้งแต่การตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต การทำไดอะไลซีสและการตกตะกอนแบคเทอริโอซินด้วยกรดไตรคลอโรแอซิติก สำหรับการทดสอบความคงตัวของแบคเทอริโอซินที่ผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ต่อระดับการให้ความร้อน (ที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน) ระดับพีเอชและสภาพที่มีเอนไซม์ชนิดต่างๆ พบว่าแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ *L. plantarum* LS0602 มีความคงตัว (ไม่สูญเสียกิจกรรม) เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิระดับต่ำจนถึงอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (ค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซินเท่ากับ 819,200 AUต่อมิลลิลิตร) ส่วนแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ *L. brevis* LT 0904 มีความคงตัวต่อความร้อนน้อยกว่าแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ *L. plantarum* LS0602 คือมีกิจกรรมแบคเทอริโอซินไม่ลดลงหากให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สำหรับผลของพีเอชที่ระดับพีเอช 2-10 พบว่าแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์มีความคงตัว (ค่ากิจกรรมไม่ลดลง) เมื่ออยู่ในสภาพที่มีพีเอชในช่วงพีเอช 2-7 แต่ค่ากิจกรรมของแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อทั้งสองสายพันธุ์จะค่อย ๆ ลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่มีพีเอชสูงกว่าพีเอช 8 และเมื่อศึกษาผลของเอนไซม์ $\alpha$-amylase เอนไซม์ lipase เอนไซม์ papain เอนไซม์ pepsin และเอนไซม์ trypsin ที่ความเข้มข้น 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อความคงตัวของกิจกรรมของแบคเทอริโอซินของเชื้อ *L. plantarum* LS0602 และ *L. brevis* LT 0904 พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวไม่มีผลทำให้แบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์สูญเสียกิจกรรม และเมื่อนำแบคเทอริ

โอซินจากแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาใช้ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารเหลว พบว่าแบคเทอริโอซินจากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถยับยั้งการเจริญของ *L. monocytogenes* ในอาหารเหลวที่เติมแบคเทอริโอซินที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ปริมาตรร้อยละ 23.1

แบคเทอริโอซินจาก *L. plantarum* LS0602 และ *L. brevis* LT0904 มีประสิทธิภาพในการใช้เป็นสารชีวภาพต้านจุลินทรีย์ *L. monocytogenes* ในหมูบดแช่เย็นโดยแบคเทอริโอซินจาก *L. plantarum* LS0602 ที่ความเข้มข้นร้อยละ 4 ให้ผลดีที่สุดในการลดจำนวน *L. monocytogenes* งานวิจัยขั้นต่อไปควรศึกษาสภาวะต่างๆในการผลิตแบคเทอริโอซินในระดับอุตสาหกรรมเพื่อการจำหน่าย