

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ศึกษาการแยกแบคทีเรียแลคติกจากอาหารหมักและการทำเชื้อที่ได้ให้บริสุทธิ์

ทำการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกจากอาหารหมัก 5 ชนิด คือ หอยคอง มาจากในห้างสรรพสินค้าฟิวเจอร์ปาร์คบางแค แหนม มาจากบริเวณข้างห้างสรรพสินค้าเดอะ มอลล์ บางแค แหนม ยี่หื้อห้วยแก้ว ปลาต้ม ยี่หื้อคุณชายทองวัน และไส้กรอกอีสาน มาจากบริเวณข้างห้างสรรพสินค้า เดอะ มอลล์ บางแค โดยทำการคัดเลือกเชื้อบนอาหารเอ็มอาร์เอส บรอตที่ผสมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไป และสังเกตลักษณะบริเวณยับยั้งที่เกิดบนอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ จากการคัดเลือกพบว่าแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ทั้งหมดมีจำนวน 10 สายพันธุ์ ซึ่งทุกสายพันธุ์จะเจริญบนอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ และทำให้เกิดบริเวณยับยั้งรอบๆ โคลินิของเชื้อ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 2 จากนั้นศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อด้วยวิธีย้อมแกรม และทดสอบการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงแหล่งอาหารหมัก ลักษณะโคโลนี รูปร่างของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้ และผลการทดสอบแคตาเลส

แหล่งที่มา	จำนวน (สายพันธุ์)	รหัส	ลักษณะโคโลนี	การย้อมแกรม	การทดสอบแคตาเลส
หอยคอง จากในห้างสรรพสินค้าฟิวเจอร์ ปาร์ค บางแค	2	H ₁	กลมมูน สีขาวขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
		H ₂	กลมแบน สีเหลือง	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
แหนม จากบริเวณข้างห้างสรรพสินค้าเดอะมอลล์ บางแค	2	N ₁	กลมมูน สีเหลือง	รูปร่างกลม แกรมบวก	ลบ
		N ₂	กลมมูน สีขาวขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ

ตารางที่ 2 (ต่อ)

แหล่งที่มา	จำนวน (สายพันธุ์)	รหัส	ลักษณะ โคโลนี	การย้อมแกรม	การ ทดสอบ แคตาเลส
ແໜ່ນ ຍີ່ຫຼ້ອ່ຫຼ້ວຍແກ້ວ	2	M ₁	กลมมน สีเหลืองขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
		M ₂	กลมมน สีขาวขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
ປລາສຕິກ ຍີ່ຫຼ້ອ່ຄຸນຍາຍທອງວັນ	2	P ₁	กลมมน สีขาวขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
		P ₂	กลมมน สีเหลืองขุ่น	รูปร่างกลม แกรมบวก	ลบ
ໄສ້ກອກອີສານ ຈາກບຣີເວນຂ້າງ ຫ້າງສຣຣພຣທິນຕ້າເດອະ ມອລຕ໌ ບາງແຄ	2	S ₁	กลมมน สีขาวขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ
		S ₂	กลมมน สีเหลืองขุ่น	รูปร่างท่อน แกรมบวก	ลบ

จากตารางที่ 2 พบว่าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ทำการคัดแยกมาทั้ง 10 สายพันธุ์ มีลักษณะกลมมน สีขาวขุ่น 5 สายพันธุ์ มีลักษณะกลมมน สีเหลือง 1 สายพันธุ์ กลมแบน สีเหลือง 1 สายพันธุ์ มีลักษณะกลมมน สีเหลืองขุ่น 3 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทำการตรวจรูปร่างและการติดสีของแบคทีเรียแลคติกที่คัดแยกได้จะได้แบคทีเรียแกรมบวกหมด และมีรูปร่างท่อน 8 สายพันธุ์ รูปร่างกลม 2 สายพันธุ์ ส่วนผลการทดสอบการผลิตเอนไซม์แคตาเลส ได้ผลเป็นลบทั้งหมด

4.2 ศึกษาการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่สามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อทดสอบ

จากแบคทีเรียแลคติกทั้ง 10 สายพันธุ์ที่แยกได้นำมาคัดเลือกหาสายพันธุ์ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ (*E. coli*, *B. subtilis*, *S. aureus*) โดยนำส่วนน้ำใสที่ได้จากการหมักของแบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์ มาทำการทดสอบกับเชื้อทดสอบ เมื่อแบคทีเรียแลคติกมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบจะเกิดเป็นโซนยับยั้งขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงตัวอย่างในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเกิดโซนยับยั้งในเชื้อทดสอบ

จากผลการทดสอบพบว่า แบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ มีความสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อที่แตกต่างกัน โดยเชื้อสายพันธุ์ใดที่สามารถผลิตสารยับยั้งได้ก็จะเกิดบริเวณยับยั้งรอบๆ หลุมที่ใส่สารละลายเชื้อที่คัดแยกได้ ซึ่งเชื้อแต่ละสายพันธุ์จะให้ผลบริเวณยับยั้งที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 3

จากตารางที่ 3 แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบ โดยพบว่าเมื่อทำการทดสอบแบคทีเรียแลคติก 10 สายพันธุ์ มี 4 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้แก่ สายพันธุ์ N₁ M₂ S₁ S₂ และมี 5 สายพันธุ์ที่สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ได้แก่ สายพันธุ์ M₂ P₁ P₂ S₁ S₂ และมี 4 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้แก่ สายพันธุ์ N₁ M₂ S₁ S₂ เพราะฉะนั้นจะพบว่ามี 6 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้จากทั้งหมด 10 สายพันธุ์ ที่คัดแยกได้

ตารางที่ 3 ความสามารถในการผลิตสารยับยั้งเชื้อทดสอบของแบคทีเรียแลคติก (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

รหัสเชื้อ ที่คัดแยกได้	เชื้อทดสอบ		
	<i>E. coli</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>S. aureus</i>
H ₁	-	-	-
H ₂	-	-	-
N ₁	2.4	-	2.6
N ₂	-	-	-
M ₁	-	-	-
M ₂	2.2	2.0	2.4
P ₁	-	2.0	-
P ₂	-	2.2	-
S ₁	2.6	2.0	2.8
S ₂	2.6	1.6	3.2

หมายเหตุ - แสดงว่า ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ

4.3 ศึกษาการหาความเข้มข้นของกรดแลคติกที่เชื้อผลิตได้

จากการศึกษาหาความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบพบว่า มีแบคทีเรียแลคติก 6 สายพันธุ์ จาก 10 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ ในการทดสอบครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบการผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 6 สายพันธุ์ ว่ามีปริมาณเท่าใด โดยหมักเชื้อในอาหารเอ็มอาร์เอสอาการ์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปไตเตรทกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 4

จากตารางที่ 4 พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 6 สายพันธุ์ ผลิตกรดได้อยู่ในช่วง 0.56 – 2.46 เปอร์เซ็นต์ โดย P₁ ผลิตได้ต่ำสุด 0.56 เปอร์เซ็นต์ และ P₂ ผลิตกรดได้สูงสุดเท่ากับ 2.46 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4 ความสามารถในการผลิตกรดของแบคทีเรียแลคติก 6 สายพันธุ์เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อที่คัดแยกได้	กรดแลคติกที่คำนวณได้ (เปอร์เซ็นต์)
N ₁	1.26
M ₂	2.20
P ₁	0.56
P ₂	2.46
S ₁	2.11
S ₂	2.28

4.4 ศึกษาการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบโดยกรดแลคติกบริสุทธิ์

จากการศึกษาการใช้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.5 0.56 1.26 2.11 2.20 2.28 2.46 2.50 และ 50 เปอร์เซ็นต์ (ช่วงความเข้มข้นที่แบคทีเรียแลคติกผลิตได้) ในการยับยั้งเชื้อทดสอบ พบว่ากรดแลคติกบริสุทธิ์สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ดังแสดงผลการทดสอบในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบของกรดแลคติกบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

เชื้อทดสอบ	กรดแลคติกบริสุทธิ์ที่ใช้ (เปอร์เซ็นต์)								
	0.5	0.56	1.26	2.11	2.20	2.28	2.46	2.5	50
<i>E. coli</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>B. subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	-	1.63	2.33
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ - แสดงว่า ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ

จากตารางที่ 5 พบว่ากรดแลคติกบริสุทธิ์ที่ความเข้มข้น 0.5 ถึง 2.46 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้ จึงเป็นไปได้ว่า แบคทีเรียแลคติกอาจผลิตสารบางชนิดที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบได้ โดยที่ไม่ใช่ผลของกรดที่แบคทีเรียแลคติกผลิตขึ้น

4.5 ศึกษาความสามารถในการผลิตสารยับยั้งของแบคทีเรียแลคติก

4.5.1 อุณหภูมิ

เมื่อเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการแปรอุณหภูมิเป็น 30 37 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำส่วนใสมาทดสอบกับเชื้อทดสอบ จะได้ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบที่อุณหภูมิต่างๆ (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

รหัสเชื้อ ที่คัดแยก ได้	ความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบที่อุณหภูมิต่างๆ								
	<i>E. coli</i>			<i>B. subtilis</i>			<i>S. aureus</i>		
	30 °C	37 °C	45 °C	30 °C	37 °C	45 °C	30 °C	37 °C	45 °C
N ₁	1.14	2.40	-	-	-	-	-	2.60	-
M ₂	2.00	2.20	-	1.20	2.00	-	2.14	2.40	-
P ₁	1.74	-	-	1.60	2.00	1.80	-	-	-
P ₂	2.00	-	-	-	2.20	1.20	-	-	-
S ₁	2.00	2.60	1.34	1.54	2.00	1.40	1.74	2.80	-
S ₂	2.26	2.60	1.34	1.54	1.60	1.40	1.74	3.20	-

หมายเหตุ - แสดงว่า ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบ

จากตารางที่ 6 พบว่า เชื้อ N₁ มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดีเท่ากับ 2.40 เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด เมื่อบ่มเชื้อ N₁ ที่ 37 องศาเซลเซียส เท่ากับ 2.60 แต่เชื้อ N₁ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* ได้เลย ทั้ง 3 อุณหภูมิ

ในส่วนของ M_2 จะพบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อ M_2 มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดี เท่ากับ 2.20 คือ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *B. subtilis* จะถูกยับยั้งได้ดี เท่ากับ 2.00 เมื่อบ่มเชื้อ M_2 ที่ 37 องศาเซลเซียส ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุดเท่ากับ 2.40 เมื่อบ่มเชื้อ M_2 ที่ 37 องศาเซลเซียส

P_1 พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อมีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดี เท่ากับ 1.74 คือ 30 องศาเซลเซียส ส่วน *B. subtilis* ถูกยับยั้งได้ดี เท่ากับ 2.00 เมื่อบ่มเชื้อ P_1 ที่ 37 องศาเซลเซียส และ เชื้อ P_1 ไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้เลยทุกอุณหภูมิที่บ่มเชื้อ

P_2 พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อ P_2 มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดี เท่ากับ 2.00 คือ 30 องศาเซลเซียส ส่วน *B. subtilis* ถูกยับยั้งได้ดีเมื่อบ่มเชื้อ P_2 ได้ดี เท่ากับ 2.20 เมื่อบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส แต่ทุกอุณหภูมิของการบ่ม P_2 ไม่มีความสามารถในการยับยั้ง *S. aureus* ได้เลย

S_1 พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อ S_1 มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดี เท่ากับ 2.60 คือ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *B. subtilis* จะถูกยับยั้งได้ดี เท่ากับ 2.00 ที่ 37 องศาเซลเซียส และที่ 37 องศาเซลเซียสของการบ่มเชื้อ S_1 จะยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุดเท่ากับ 2.80

S_2 พบว่าอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อ S_2 มีความสามารถในการยับยั้ง *E. coli* ได้ดี เท่ากับ 2.60 คือ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *B. subtilis* จะถูกยับยั้งได้ดี เท่ากับ 1.60 เมื่อบ่มเชื้อ S_2 ที่ 37 องศาเซลเซียส และเชื้อ S_2 ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุดเท่ากับ 3.20 เมื่อบ่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส

จากผลการทดสอบ พบได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดที่มีผลต่อการผลิตและการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์จากแบคทีเรียแลคติก เท่ากับ 37 องศาเซลเซียส หากช่วงของอุณหภูมิไม่เหมาะสมก็อาจส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการทำงานของสารยับยั้งได้

4.5.2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง

ทำการศึกษาปัจจัยทางด้านของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำงานของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแบคทีเรียแลคติก โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3 5 7 9 และ 11 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำส่วนในสมาทดสอบกับเชื้อทดสอบ ได้ผลการทดสอบดังตารางที่ 7

จากตารางที่ 7 จะพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ S_1 ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3-11 จะไม่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เลย โดยมีความสามารถในการยับยั้ง *B. subtilis* ได้ดีที่สุดที่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5 ซึ่งมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 1.46 ยับยั้ง

S. aureus ได้ดีที่สุดในที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ซึ่งมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 1.52 และไม่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อได้เลย เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 11

ส่วนเชื้อ S_2 จะไม่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้เลย ในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3-11 แต่สามารถยับยั้ง *B. subtilis* ได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3 เท่ากับ 1.40 ยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 ได้ค่าเท่ากับ 2.54 และไม่สามารถผลิตสารยับยั้งเชื้อได้เลยเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 11

ส่วนเชื้อที่เหลือ คือ N_1 , M_2 , P_1 และ P_2 ไม่สามารถสร้างสารมายับยั้งเชื้อทดสอบได้เลย เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3-11

ตารางที่ 7 แสดงความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

รหัสเชื้อที่ คัดแยกได้	ความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่างๆ														
	3			5			7			9			11		
	E	B	S	E	B	S	E	B	S	E	B	S	E	B	S
N_1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M_2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P_1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P_2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
S_1	-	1.34	-	-	1.46	-	-	1.34	1.52	-	1.26	-	-	-	-
S_2	-	1.40	-	-	-	-	-	1.34	2.54	-	1.26	-	-	-	-

หมายเหตุ กำหนดให้ E แทน *E. coli*

B แทน *B. subtilis*

S แทน *S. aureus*

และ - แสดงว่าไม่เกิดบริเวณยับยั้ง

4.6 ศึกษาความไวของสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติก

การทดสอบความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติกต่อความร้อนและเอนไซม์โปรติโอไลติก เปรียบเทียบกับแบคทีเรียโอซินทางการค้า

4.6.1 ความร้อน

นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้มาทดสอบความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียต่อความร้อนเปรียบเทียบกับแบคทีเรียโอซินทางการค้า โดยนำไปให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธีเวลล์ดีฟิวชันแอสเซย์ ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลของความร้อนที่มีต่อความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติก ตามระยะเวลาให้ความร้อน (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

เชื้อทดสอบ	เชื้อ S ₁			เชื้อ S ₂			สารไนซิน		
	10 นาที	20 นาที	30 นาที	10 นาที	20 นาที	30 นาที	10 นาที	20 นาที	30 นาที
<i>E. coli</i>	1.2	-	-	1.2	1.2	-	1.4	-	-
<i>B. subtilis</i>	1.6	-	-	1.34	1.2	1.2	1.2	1.2	-
<i>S. aureus</i>	-	-	-	1.34	-	-	1.2	1.2	-

จากตารางที่ 8 พบว่า การให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที มีผลเพียงเล็กน้อยในการทำลายความสามารถของสารยับยั้งที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S₁ S₂ และสารไนซิน ในการทำลายเชื้อ *E. coli* *B. subtilis* ความร้อนและเวลาระดับนี้มีผลในการทำลายความสามารถของสารยับยั้งที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S₁ ในการทำลายเชื้อ *S. aureus*

การให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที มีผลในการทำลายความสามารถของสารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S₁ ในการทำลายเชื้อ *E. coli* *B. subtilis* และ *S. aureus* ระดับความร้อน และเวลาดังกล่าวมีผลในการทำลายความสามารถของสารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S₂ ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* แต่มีผลเล็กน้อยในการทำลายเชื้อ *E. coli* *B. subtilis* ส่วนสารไนซินจะ

ถูกทำลายความสามารถ ในการทำลายเชื้อ *E. coli* แต่มีผลเล็กน้อยในการทำลายเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus*

การให้ความร้อนที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที มีผลในการทำลายความสามารถของสารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S_1 และสารไนซิน ในการทำลายเชื้อ *E. coli* *B. subtilis* และ *S. aureus* ทั้งหมด ระดับความร้อน และเวลาดังกล่าวมีผลในการทำลายความสามารถของสารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S_2 ในการทำลายเชื้อ *S. aureus* แต่มีผลเล็กน้อยในการทำลายเชื้อ *B. subtilis*

4.6.2 เอนไซม์โปรติโอไลติก

นำแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้มาทดสอบความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียต่อเอนไซม์โปรติโอไลติกเปรียบเทียบกับแบคทีเรียโอซินทางการค้า โดยนำส่วนใสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อและแบคทีเรียโอซินทางการค้ามาเติมด้วยเอนไซม์โปรติโอไลติก เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธีเวลล์ดีฟฟิวชันแอสเซย์ โดยได้ผลการทดลองดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลของเอนไซม์โปรติโอไลติกที่มีต่อความไวของสารยับยั้งแบคทีเรียจากแบคทีเรียแลคติก (เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง : เซนติเมตร)

เชื้อทดสอบ	เชื้อ S_1		เชื้อ S_2		สารไนซิน	
	ทริปซิน	โปรติเนส เค	ทริปซิน	โปรติเนส เค	ทริปซิน	โปรติเนส เค
<i>E. coli</i>	-	1.74	1.46	-	2	1.4
<i>B. subtilis</i>	1.46	1.4	-	1.26	-	-
<i>S. aureus</i>	-	1.4	-	-	-	-

จากการทดลองในตารางที่ 9 พบว่าเอนไซม์ทริปซินมีผลต่อการทำงานของสารยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตจากเชื้อ S_1 โดยมีผลยับยั้งการทำลายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* มีผลยับยั้งความสามารถของสารยับยั้งที่ผลิตจากเชื้อ S_2 โดยมีผลยับยั้งการทำลายเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* และมีผลยับยั้งการทำงานของสารไนซินที่มีต่อเชื้อ *B. subtilis* และ *S. aureus* เอนไซม์ทริปซินมีผลเพียงเล็กน้อยในการทำลายความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเชื้อ S_1 ในการทำลายเชื้อ *B. subtilis* มีผลเล็กน้อยในการยับยั้งความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเชื้อ S_2 ใน

การทำลายเชื้อ *E. coli* และ มีผลเล็กน้อยในการยับยั้งความสามารถในการยับยั้งการทำงานของสารไนซิน ในการทำลายเชื้อ *E. coli*

เอนไซม์โปรตีนเอส เค มีผลต่อการทำงานของสารยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตจากเชื้อ S_2 โดยมีผลยับยั้งการทำลายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* และมีผลยับยั้งการทำงานของสารไนซิน ที่มีต่อเชื้อ *B. subtilis* *S. aureus* เอนไซม์นี้มีผลเล็กน้อยในการยับยั้งการทำงานของสารที่ผลิตขึ้นจากเชื้อ S_1 ในการทำลายเชื้อ *E. coli* *B. subtilis* และ *S. aureus* มีผลเล็กน้อยในการยับยั้งการทำงานของสารไนซิน ในการทำลายเชื้อ *E. coli*