

**บทที่ 4**  
**ผลการวิจัย**

จากการคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้มสายชู จากอาหารหมักดองที่เก็บจากตลาดในเขตดุสิตกรุงเทพมหานครโดยเก็บตัวอย่างทั้งสิ้น 56 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้มสายชู โดยใช้อาหาร Enrichment culture เพื่อให้ได้แบคทีเรียผลิตกรดน้ำส้มหลากหลายสายพันธุ์และใช้ Glucose-ethanol-calcium carbonate agar plate เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้ม ตรวจพบแบคทีเรียที่ผลิตกรดจำนวน 419 สายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์อะซิติกในสื่อรอบโคโลนี เมื่อนำแบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 419 สายพันธุ์มาทำการทดสอบการมีอยู่ของเอนไซม์อะซิติกพบว่ามีเพียง 59 สายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์อะซิติกได้ จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 59 สายพันธุ์มาทำการทดสอบ Oxidation/Fermentation (แสดงผลดังตารางที่ 4.1) พบว่ามีแบคทีเรียเพียง 34 สายพันธุ์ ที่สามารถ เจริญในสภาวะที่มีอากาศแต่จะไม่เจริญในสภาวะที่ไร้อากาศ ซึ่งคาดว่าจะ เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ จึงทำการทดสอบแบคทีเรียที่มีแนวโน้มว่าจะเป็นอะซิติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 34 สายพันธุ์ต่อไป

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบ Oxidation/Fermentation, การทดสอบ Catalase และการเจริญบนอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 30%

Code	Original code	O/F test		Catalase test	Growth in 30% glucose	ที่มา
		สี	ผล			
<i>A. aceti</i>	BCC 12455 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	-	Culture Collection ศูนย์พันธุ์ วิศวกรรม (BIOTEC)
<i>G. oxydans</i>	BCC 12337 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	- or +	
<i>Ga. liquefaciens</i>	BCC 12274 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	-	
<i>As. bogorensis</i>	BCC 12264 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	+	
<i>Sw. salitolerans</i>	BCC 17684 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	+	
<i>K. ballensis</i>	BCC 12275 <sup>T</sup>	Y/G	+/-	+	+	
RSor 3/1		Y/G	+/-	+	+	ตลาดราชวัตร
T30G7/2		Y/G	+/-	+	+	ตลาดเทเวศร์

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

Code	Original code	O/F test		Catalase test	Growth in 30% glucose	ที่มา
		สี	ผล			
TMa8/1		Y/G	+/-	+	+	ตลาด เทเวศร์
TMa8/2		Y/G	+/-	+	+	
TG15		Y/G	+/-	+	-	
TG20		Y/G	+/-	+	-	
T30G12/1		Y/G	+/-	+	+	
TMa12/2		Y/G	+/-	+	+	
TMe12/2		Y/G	+/-	+	+	
TSor13/1		Y/G	+/-	+	+	
TMe13/2		Y/G	+/-	+	+	
TMe14/3		Y/G	+/-	+	+	
TMa15/A		Y/G	+/-	+	+	
TMe15/1		Y/G	+/-	+	+	
TSor15/1		Y/G	+/-	+	+	
TSor15/2		Y/G	+/-	+	+	
T30G15/1		Y/G	+/-	+	+	
TG15/1		Y/G	+/-	+	+	
TG15/3		Y/G	+/-	+	+	
TSor 21/1		Y/G	+/-	+	+	
TMa21/4		Y/G	+/-	+	+	
TMa23/1		Y/G	+/-	+	-	
TG20B		Y/G	+/-	+	+	
TG20Y		Y/G	+/-	+	+	
TMa11/2		Y/G	+/-	+	+	

## ตารางที่ 4.1(ต่อ)

Code	Original code	O/F test		Catalase test	Growth in 30% glucose	ที่มา
		สี	ผล			
TMa11/3		Y/G	+/-	+	+	ตลาด เทเวศร์
TMa12/4		Y/G	+/-	+	+	
TSor11/2		Y/G	+/-	+	+	
SG7/1		Y/G	+/-	+	+	ตลาด ศรียาน
SG7/4		Y/G	+/-	+	+	
SSor7/1		Y/G	+/-	+	+	
Ssor7/2		Y/G	+/-	+	+	
MG5/1		Y/G	+/-	+	+	ตลาด มหานาค
MG5/3		Y/G	+/-	+	+	

หมายเหตุ : Oxidation/Fermentation test : Y หมายถึง สีเหลือง, G หมายถึง สีเขียว, (+/-) หมายถึง หลอดทดสอบที่ไม่ได้ปิดทับด้วยน้ำมันพาราฟินเปลี่ยนเป็นสีเหลืองแต่หลอดทดสอบที่ปิดทับด้วยน้ำมันพาราฟินเป็นสีเขียว, (++) หมายถึง หลอดทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้ง 2 หลอด, ND หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ , Catalase test : + หมายถึง ตัวอย่างทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์แล้วเกิดฟอง, - หมายถึง ตัวอย่างไม่เกิดการทำปฏิกิริยา ND หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ , Growth in 30% glucose : + หมายถึง ตัวอย่างสามารถเจริญได้, - หมายถึง ตัวอย่างไม่สามารถเจริญ, ND หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

จากการทดสอบความสามารถของการออกซิไดซ์อะซิเตทและแลคเตท (ผลแสดงดังตารางที่ 4.2)พบว่าแบคทีเรียทั้ง 34 สายพันธุ์ มีอยู่ 31 สายพันธุ์ที่ไม่สามารถออกซิไดซ์อะซิเตทและแลคเตท ไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ซึ่งลักษณะทางชีวเคมีของแบคทีเรียทั้ง 31 สายพันธุ์เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้มสายชูในสกุล *Gluconobacter* (Asai *et al.*,1964;Lisdiyanti *et al.*,1999;Phattraporn, 2002) พบ non-acetic acid 3 สายพันธุ์ ผลการทดลองดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.2 และ 4.3

ตารางที่ 4.2 ผลการออกซิไดซ์ อะซิเตท/แลคเตท และการเจริญของแบคทีเรียที่เลี้ยงที่ตัดแยกได้ใน test medium

Code	Oxidation of				Glucose+ 0.3% Acetic acid	Glucose w/0 Acetic acid	Sorbitol	Sucrose+ 0.3% Acetic acid
	acetate		lactate					
	สี	ผล	สี	ผล				
<i>A. aceti</i>	bb	+	bb	+	+++	+++	-	+++
<i>G. oxydans</i>	yy	-	yy	-	+	+++	+++	+
<i>Ga. liquefaciens</i>	bb	+	bb	+	++	+++	+++	+++
<i>As. bogorensis</i>	gg	w	gb	w	++	+++	+++	+
<i>Sw. salitolerans</i>	gb	w	gb	w	+	+++	+++	-
<i>K. ballensis</i>	gb	w	gb	w	+	+++	+++	+
RSor 3/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
T30G7/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa8/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa8/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TG15	bb	+	bb	+	ND	ND	ND	ND
TG20	bb	+	bb	+	ND	ND	ND	ND
T30G12/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa12/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMe12/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TSor13/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMe13/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMe14/3	yy	-	yy	-	+	+++	+	+
TMa15/A	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMe15/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TSor15/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TSor15/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
T30G15/1	yy	-	yy	-	+	+++	+	+
TG15/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+

ตารางที่ 4.2(ต่อ)

Code	Oxidation of				Glucose+ 0.3% Acetic acid	Glucose w/0 Acetic acid	Sorbitol	Sucrose+ 0.3% Acetic acid
	acetate		lactate					
	สี	ผล	สี	ผล				
TG15/3	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TSor 21/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa21/4	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa23/1	bb	+	bb	+	ND	ND	ND	ND
TG20B	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TG20Y	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa11/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa11/3	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TMa12/4	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
TSor11/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
SG7/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
SG7/4	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
SSor7/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
Ssor7/2	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
MG5/1	yy	-	yy	-	+	+++	++	+
MG5/3	yy	-	yy	-	+	+++	++	+

หมายเหตุ : Oxidation of acetate/lactate : bb หมายถึง สีน้ำเงิน, yy หมายถึงสีเหลือง, bg หมายถึง สีน้ำเงินอมเขียว, + หมายถึงอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีน้ำเงิน, - หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเหลือง, w หมายถึง อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเขียวแกมน้ำเงิน

: Growth in Test medium : +++ หมายถึง เจริญดีมาก , ++ หมายถึง เจริญดี , + หมายถึง เจริญเล็กน้อย, - หมายถึง ไม่สามารถเจริญได้, ND หมายถึง ไม่ได้ทำการทดสอบ

จากการทดสอบการเจริญของตัวอย่างในอาหารที่มีความเป็นกรด – ต่าง ต่างๆ พบว่า  
แบคทีเรียสามารถเจริญได้ที่ความเป็นกรด – ต่าง ตั้งแต่ 3.0 -5.0 (ดังตารางที่ 4.3 )

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียในสภาวะความเป็นกรด - ต่าง ต่างๆ

Code	pH 3.0	pH 3.5	pH 4.0	pH 4.5	pH 5.0
<i>A.aceti</i>	+	+	++	++	+++
<i>G.oxydans</i>	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Ga.liquefaciens</i>	++	+++	+++	+++	+++
<i>As.bogorensis</i>	+++	+++	+++	+++	+++
<i>Sw. salitolerans</i>	+++	+++	+++	+++	+++
<i>K. ballensis</i>	++	+++	+++	+++	+++
RSor 3/1	++	+++	+++	+++	+++
T30G7/2	++	+++	+++	+++	+++
TMa8/1	+++	+++	+++	+++	+++
TMa8/2	+++	+++	+++	+++	+++
T30G12/1	+++	+++	+++	+++	+++
TMa12/2	+++	+++	+++	+++	+++
TMe12/2	+++	+++	+++	+++	+++
TS13/1	+++	+++	+++	+++	+++
TMe13/2	+++	+++	+++	+++	+++
TMe14/3	+++	+++	+++	+++	+++
TMa15/A	+++	+++	+++	+++	+++
TMe15/1	+++	+++	+++	+++	+++
TS15/1	+++	+++	+++	+++	+++
TS15/2	+++	+++	+++	+++	+++
T30G15/1	+++	+++	+++	+++	+++
TG15/1	+++	+++	+++	+++	+++
TG15/3	+++	+++	+++	+++	+++
TSor 21/1	+++	+++	+++	+++	+++

ตารางที่ 4.3 (ต่อ) ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียในสภาวะความเป็นกรด - ต่าง ต่างๆ

Code	pH 3.0	pH 3.5	pH 4.0	pH 4.5	pH 5.0
TM21/4	+++	+++	+++	+++	+++
TG20B	+++	+++	+++	+++	+++
TG20Y	+++	+++	+++	+++	+++
TMa11/2	+++	+++	+++	+++	+++
TMa11/3	+++	+++	+++	+++	+++
TMa12/4	+++	+++	+++	+++	+++
TSor11/2	+++	+++	+++	+++	+++
SG7/1	+++	+++	+++	+++	+++
SG7/4	+++	+++	+++	+++	+++
SSor7/1	+++	+++	+++	+++	+++
Ssor7/2	+++	+++	+++	+++	+++
MG5/1	+++	+++	+++	+++	+++
MG5/3	+++	+++	+++	+++	+++

หมายเหตุ : การเจริญในสภาวะความเป็นกรด-ต่าง ต่างๆ : +++ หมายถึง เจริญดีมาก , ++ หมายถึง เจริญดี , + หมายถึง เจริญเล็กน้อย , - หมายถึง ไม่สามารถเจริญได้