บทที่ 4

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

Vibrio sp. สายพันธุ์ St-1-1 ที่แยกได้จากหอยทรายบริเวณเกาะสีชัง จังหวัดชลบุรี (Juntongjin et al., 1993) สามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ และจากรายงานวิจัยของ เบญจภรณ์ รุ่งพิทักษ์ไชย (2538) ที่ได้เลี้ยงเชื้อดังกล่าวในอาหารเหลว L-medium ที่มีองค์ประกอบดังนี้คือ กลูโคส 0.2 เปอร์เซนต์ โพลีเปปโตน 0.5 เปอร์เซนต์ สารสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซนต์ โซเดียมคลอไรด์ 1.8 เปอร์เซนต์ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.25 เปอร์เซนต์ โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และมีความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.5 เพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. เชื้อสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้เท่ากับ 3.12 ไมโครกรัมต่อลิตร

จากการทดสอบการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมโดยเชื้อ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 ที่ช่วงเวลาต่างๆ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียม โดยวิธีทดสอบกับเนื้อเยื่อ (tissue culture assay) พบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงเท่ากับ 21.74 ไมโครกรัมต่อลิตรที่เวลา 72 ชม. จึงใช้ในการทดลองขั้นต่อไป ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Do และคณะ (1990) ซึ่งสามารถแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้จากดินตะกอนใต้ทะเลลึก โดยทำการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว L - medium เป็นเวลา 72 ชม. จึงนำมาวิเคราะห์หาอนุพันธ์ของสารกีดขวางช่องโซเดียม ซึ่งพบว่าเป็นอนุพันธ์เทโทรโดทอกซิน

งานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาองค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อ และภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยง *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสารกีดขวางช่องโซเดียมโดยในขั้นแรก ศึกษาแหล่งคาร์บอนต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม พบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงสุดเท่ากับ 34.57 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อใช้กลูโคสความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.2 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งคาร์บอนเช่นเดียวกันกับรายงานของ Juntongjin และคณะ (1993) ได้นำแบคทีเรียสกุล *Vibrio* และ *Pseudomonas* ที่แยกจากบริเวณ

อ่าวไทยมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซนต์เป็นแหล่งคาร์บอน เพื่อผลิตสารเพื่อผลิตสารกีดขวางช่องโซเดียม เมื่อนำกลีเซอรอล ซูโครส สารละลายแป้ง และฟรุกโตส มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อสามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ไม่สูงเท่ากับเมื่อใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน จากการวัดการเจริญ โดยการวัดค่าความขุ่นของเซลล์ จะพบว่าเชื้อ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลีเซอรอล ซูโครส สารละลายแป้ง เป็นแหล่งคาร์บอน ในขณะที่ใช้กลูโคสและฟรุกโตสเป็นแหล่งคาร์บอน เชื้อแบคทีเรียจะเจริญได้ดีรองลงมา

การศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมโดย *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 พบว่า โพลีเปปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เชื้อนำไปใช้ในการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ดี โดยใช้ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ต่ำ แต่ยังสามารถให้ผลผลิตในปริมาณสูงใกล้เคียงกับในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรก่อนปรับปรุง ซึ่งใช้ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซนต์ และเนื่องจากโพลีเปปโตนเป็นสารที่มีราคาแพงดังนั้นจึงเลือกใช้โพลีเปปโตนความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์ ส่วนการใช้ไฟโตนเปปโตน เปปโตน และโปรติโอสเปป-โตน หมายเลข 3 และยูเรีย เป็นแหล่งไนโตรเจนจะพบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 สามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้แต่ไม่ดีเท่ากับการใช้โพลีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อ เมื่อใช้โพลีเปปโตนเป็นแหล่ง ไนโตรเจนโดยไม่มีการเติมสารสกัดจากยีสต์ จะพบว่าเชื้อจะเจริญและสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้น้อยกว่าเมื่อมีสารสกัดจากยีสต์เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ซึ่งอาจเป็นเพราะสารสกัดจากยีสต์จะถูกนำไปใช้เป็นทั้งแหล่งไนโตรเจนและแหล่งวิตามินบีรวม (B-complex vitamins) โดยอาจจะไปกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียเป็นอย่างดี (Sikyta, 1983) ส่วนการใช้แหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจน พบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 สร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ปริมาณสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน เมื่อที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อจะสร้างปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมได้รองลงมาตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมที่สร้างขึ้นจากการใช้แหล่งอนินทรีย์ไนโตรเจนก็ยังไม่สูงเท่ากับการใช้โพลีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน เพื่อสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมโดย *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จากการวัดการเจริญ จะพบว่า เมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่ง อนินทรีย์ไนโตนเจน *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะเจริญได้ใกล้เคียงกัน

ผลของเกลือแร่ต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม โดย *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 พบว่า เชื้อจะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงสุดเมื่อใช้โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1.8 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในขณะที่ไม่เติมโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้เชื้อเจริญได้น้อยมาก จึงไม่มีการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมหรือสร้างได้น้อยมาก ผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Macleoad และคณะ (1954) ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่แยกจากทะเลจะต้องการ โซเดียมคลอไรด์สำหรับการเจริญ และเมื่อทำการศึกษาผลของแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSo_4 . 7H_2O$) ต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมพบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 สร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงสุดเมื่อเติมแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.35 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าที่ใช้ในอาหารเหลวสูตรก่อนปรับปรุง ส่วนผลของไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมพบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงสุดเท่ากับ 20.64 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อเติมไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซนต์ และถ้าเติมความเข้มข้นมากกว่า 0.05 เปอร์เซนต์จะทำให้ปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมที่ได้ลดลง เช่นเดียวกันกับรายงานของ Gallacher และคณะ (1993) พบว่าฟอสเฟต (ซึ่งอยู่ในรูปสารละลายบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ โปแทสเซียมฟอสเฟต pH 7.5) ปริมาณ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรจะไปยับยั้งการสร้างเทโทรโดทอกซิน ของ *Alteromonas tetraodonis* ลง 90 เปอร์เซนต์ จากนั้นได้ทดลองนำเอาโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.2H_2O$) มาใช้แทนไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ซึ่งพบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะสามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้เท่ากับ 55.66 ไมโครกรัมต่อลิตรซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าเมื่อใช้ไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยมีความเข้มข้นที่เหมาะสมคือ 0.05 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากโซเดียมมีผลไปชักนำการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม แต่ต้องเติมในปริมาณที่เหมาะสม ซึ่งการเติมไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตทำให้ในอาหารเลี้ยง เชื้อมีปริมาณโซเดียมทั้งหมด 7.24 กรัมต่อลิตร ในขณะที่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณโซเดียมเพิ่มขึ้นเท่ากับ 7.87 ไมโครกรัมต่อลิตร ปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมที่ได้จะลดลง ดังรายงานของ ณฐินี สุวรรณสิงห์ (2533) พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่ผลิตโดยแบคทีเรียในทะเล โดยที่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซนต์ เชื้อจะผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด และสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์ 15 เปอร์เซนต์ แต่ถ้ามีมากกว่า 20 เปอร์เซนต์เชื้อไม่สามารถเจริญได้

จากการศึกษาภาวะในการเลี้ยง *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 เพื่อสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม พบว่า ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมคือ 7.5 โดยสร้างได้เท่ากับ 64.41 ไมโครกรัมต่อลิตร และเชื้อจะเจริญได้ใกล้เคียงกันเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่างแตกต่างกัน และเมื่อทำการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่าเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ดีที่สุดเท่ากับ 62.38 ไมโครกรัมต่อลิตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมจะถูกกระตุ้นให้เชื้อมีการสร้างสารอนุพันธ์ที่มีแอคติวิตีสูงขึ้น ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบสารที่มีระดับความเป็นพิษสูง ในขณะที่เชื้อจะเจริญได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิในการเพาะเลี้ยงเพิ่มขึ้น เชื้อจะเจริญได้น้อยลงตามลำดับ ความแตกต่างของอุณหภูมิที่เหมาะกับการเจริญและการสร้างผลผลิต ได้มีรายงานของ Soltero และ Johnson (1953) ซึ่งพบว่า *Pennicillium chrysogenum* จะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่การผลิตสารปฏิชีวนะเพนนิซิลินจะผลิตได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ส่วนการศึกษาการให้อากาศแก่จุลินทรีย์โดยการเขย่าจะพบว่า ความเร็วรอบในการเขย่าที่เหมาะสมต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมและการเจริญของ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 คือ 200 รอบต่อนาที และเมื่อศึกษารูปแบบการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมและการเจริญ ของ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 โดยทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรที่ปรับปรุงแล้ว(ภาคผนวก ก หมายเลข 3) มีความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ 7.5 บ่มเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมที่เชื้อสร้างขึ้นจะมีค่าไม่คงที่ตลอดระยะเวลาการบ่มซึ่งอาจเนื่องมาจากสารกีดขวางช่องโซเดียมที่ตรวจพบในช่วงเวลาต่างๆ เป็นสารตัวกลางที่เกิดขึ้นระหว่างการสังเคราะห์สารกีดขวางช่องโซเดียมในแบคทีเรีย ดังนั้นในแต่ละช่วงเวลาอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารตัวกลางเหล่านี้ ซึ่งจะทำให้มีแอคติวิตีแตกต่างกันจึงทำให้ตรวจพบระดับความเป็นพิษแตกต่างกันในแต่ละช่วงเวลาโดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ 3 วันให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับ 64.27 ไมโครกรัมต่อลิตร ซึ่งการเจริญของจุลินทรีย์ จะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ (stationary phase) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ ศิริโฉม เหลืองอ่อน (2536) พบว่าปริมาณสารกีดขวางช่องโ ซเดียมซึ่งสร้างโดย *Vibrio* sp. ที่แยกได้จากหอยแมลงภู่ มีค่าไม่คงที่ตลอดเวลาการบ่มเมื่อจุลินทรีย์เข้าสู่การเจริญในระยะการเจริญคงที่จะมีการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมในปริมาณสูง นอกจากนี้ Kodama และคณะ (1990) พบว่า *Moraxella* sp. ที่แยกได้จาก

Protogonyaulax tamarensis จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมกลุ่มพิษอัมพาตจากหอย (GTX1 และ GTX4) ได้ไม่คงที่ตลอดระยะเวลาการบ่มเชื้อ และจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ พบว่าที่ระยะเวลาที่เชื้อให้ผลผลิตสูงสุดยังมีน้ำตาลรีดิวส์เหลืออยู่ 18.8 เปอร์เซนต์ และเมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในอาหารที่ใช้เลี้ยง *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 ที่เติมโพลีเปปโตน และสารสกัดจากยีสต์ปริมาณ 0.1 และ 0.5 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ตามลำดับ พบว่า *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ดี เมื่อไนโตรเจนที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเหลวมีปริมาณลดลงหรือถูกเชื้อนำไปใช้หมด และยังพบว่าที่ระยะเวลา 72-168 ชม.จะสามารถตรวจพบปริมาณไนโตรเจนได้เล็กน้อย ซึ่งอาจเนื่องมาจากเป็นระยะที่เซลล์แบคทีเรียมีการสลายตัวจึงมีการปล่อย สารละลายโปรตีนออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อจึงทำให้วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนได้ ซึ่งอาจเปรียบเทียบได้กับงาน Boyer และคณะ (1985) พบว่าไดโนแฟลกเจลเลต *Alexandrium tamarense* จะสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้ในปริมาณสูงเมื่อทำการเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเพียง 55 μM เมื่อวัดค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเพาะเลี้ยง โดยใน 6 ชั่วโมงแรกของการเจริญค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีค่าลดลง หลังจากนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะในช่วงแรกแบคทีเรียใช้แหล่งคาร์บอนในการเจริญ และสร้างพลังงานจึงมีการสร้างกรดหลายชนิดเป็นสาร intermediate เมื่อปริมาณแหล่งคาร์บอนลดต่ำลงแบคทีเรียจะเริ่ม ย่อยกรดอะมิโนและปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา ทำให้ค่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น (Anderson, 1954)

เนื่องจากความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญต่อการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม ซึ่งสารกีดขวางช่องโซเดียมจะเสียสภาพ (toxicity) เมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นด่าง (Evans et al., 1972) และจากการติดตามการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ พบว่ากลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนใกล้เคียงกันกว่าแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 9.05-9.13 และเมื่อแปรผันชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ พบว่าโพลีเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกันซึ่งจะอยู่ในช่วง 8.49-8.79 ส่วนการแปรผันชนิดและปริมาณเกลือแร่ พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการแปรผันไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตจะมีค่าความเป็นกรดด่างเปลี่ยนแปลงใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 8.58-8.87 จากการแปร

ผันชนิดและปริมาณองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิด พบว่าความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าไม่คงที่ ซึ่งอาจเนื่องมาจากฟอสเฟตซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ยังไม่สามารถรักษาระดับความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ไม่ดีพอ

สำหรับการเจริญของเชื้อ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 ในทุกการทดลองจะพบว่ามีการเจริญใกล้เคียงกันทั้งในแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน เกลือแร่ และภาวะต่างๆ กัน ทั้งนี้เนื่องจากการวัดการเจริญได้ทำในขณะที่เชื้อแบคทีเรียได้อยู่ในอาหารแหล่งต่างๆ ที่แปรผันนั้นเป็นเวลาถึง 72 ชั่วโมง ทำให้เชื้อได้ปรับสภาพให้สามารถเจริญในอาหารและภาวะเหล่านั้นได้ จึงทำให้เห็นการเจริญในช่วงเวลาดังกล่าว ไม่มีความแตกต่างกันมาก แต่ถ้าการวัดการเจริญได้กระทำในระยะแรกของการเจริญ เช่น ภายใน 24 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อแบคทีเรียกำลังปรับตัวกับแหล่งอาหารเหล่านั้น ก็จะทำให้สามารถบอกความแตกต่างได้ การวัดการเจริญที่ 72 ชั่วโมงนี้เกิดเนื่องจากเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ สามารถสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้สูงที่สุดในช่วงระยะเวลา 72 ชั่วโมงนั่นเอง และนอกจากนี้ถ้ามีการเติมอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มลงไป เชื้อจะสามารถเจริญต่อได้อีก ทั้งนี้เนื่องจากปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อจำกัดคือ 150 มิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อเชื้อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อหมดการเจริญจึงหยุดลง ทำให้การเจริญของเชื้อ เมื่อวัดที่ 72 ชั่วโมง มีค่าใกล้เคียงกันในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แปรผันแหล่งอาหารชนิดต่างๆ

เมื่อทำการวิเคราะห์หาชนิดของอนุพันธ์ของสารกีดขวางช่องโซเดียมที่สร้างโดย *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 โดยใช้วิธีอิเลคโตรโฟรีซีส ตรวจพบอนุพันธ์ GTX1 และเมื่อวิเคราะห์ โดยวิธีเอช พี แอล ซี จะพบอนุพันธ์ GTX4 ซึ่งเป็น epimer ของอนุพันธ์ GTX1 และพบอนุพันธ์ GTX2 ซึ่งตรวจไม่พบโดยวิธีอิเลคโตรโฟริซีส ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่า การวิเคราะห์โดยวิธี เอช พี แอล ซี มีความไว (sensitivity) สูงกว่าการวิเคราะห์โดยวิธีอิเลคโตรโฟริซีสสามารถตรวจพบสารถึงแม้ว่าจะมีปริมาณน้อยมากก็ตาม นอกจากนี้ยังพบพีคอาจจะเป็นอนุพันธ์ 4epi-TTX ซึ่งเป็นสารกีดขวางช่องโซเดียมกลุ่มเทโทรโดทอกซิน

จากงานวิจัยนี้ได้ทำการปรับปรุงองค์ประกอบของอาหารและภาวะในการเลี้ยง *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 เพื่อสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียม พบว่า จุลินทรีย์สามารถสร้างสารกีด

ขวางช่องโซเดียมได้สูงสุดเท่ากับ 64.27 ไมโครกรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้น 3.0 เท่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงในอาหารที่มีองค์ประกอบและภาวะเดิมซึ่งสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้เพียง 21.74 ไมโครกรัมต่อลิตร เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และการวิเคราะห์เปรียบเทียบภายหลัง (Duncan's multuple range test) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 0.01 (ภาคผนวก ค ข้อ 5) โดยการกำหนดให้การสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมในอาหารเหลว L-medium เป็นตัวควบคุมแล้วเปรียบเทียบกับการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมในอาหารเหลวสูตรที่ปรับปรุงแล้ว พบว่าการสร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมของแบคทีเรียในอาหารเหลวสูตรที่ปรับปรุงแล้วมีปริมาณมากกว่าในอาหารเหลว L-medium อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ แสดงให้เห็นว่า ปริมาณสารกีดขวางช่องโซเดียมที่ *Vibrio* sp. สายพันธุ์ St-1-1 สร้างขึ้นอยู่ในระดับที่สูงพอสมควร ดังนั้นถ้าได้มีการนำจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ไปปรับปรุงสายพันธุ์โดยการกลายพันธุ์ หรือการทำพันธุวิศวกรรม ซึ่งเป็นวิธีที่อาจช่วยให้จุลินทรีย์ สร้างสารกีดขวางช่องโซเดียมได้เพิ่มขึ้นอีก ซึ่งจะสามารถนำไปประยุกต์และดัดแปลงเพื่อการผลิตในขั้นอุตสาหกรรมต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย