

การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อใช้เป็นก้ำเชื้อสำหรับเตรียมปลาต้ม Isolation and Selection of Lactic Acid Bacteria as Starter for Pla-som Preparation

ต๋นนิม สมวงศ์¹, นูรามาลี ดีนามอ^{1,*}, โอนุน ยีปอง¹, และ ยัสมี สาและ¹
Tasneem Somwong¹, Nuramalee Deenamo^{1,*}, Inun Yipong¹ and Yasmee Sa-Leh¹

Received: June 20, 2025

Revised: August 29, 2025

Accepted: September 2, 2025

บทคัดย่อ

การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างปลาต้มของวิสาหกิจชุมชนแปรรูปสัตว์น้ำบ้านบือแนยามู อำเภอสู่โขงปาดิ จังหวัดนราธิวาส พบว่าการแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท ติดสีแกรมบวก มีรูปร่างแท่งและกลม จำนวน 6 ไอโซเลท สามารถผลิตเอนไซม์คะตะเลสได้ ในขณะที่ 1 ไอโซเลท ไม่แสดงการทำงานของเอนไซม์คะตะเลส เมื่อวิเคราะห์ลำดับเบสและเปรียบเทียบสายพันธุ์ในฐานข้อมูล NCBI พบว่าไอโซเลท PL-B1, PL-C2 และ PL-T4 เป็น *Staphylococcus piscifermentans* PL-C1 คือ *Staphylococcus carnosus* และ PL-T3 คือ *Lactobacillus acidipiscis* จากนั้นทดสอบการต้านการเจริญของแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี disk diffusion method พบว่า มี 1 ไอโซเลท คือ PL-T3 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสามสายพันธุ์ ได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 2011, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 แสดงผลการยับยั้งเท่ากับ 10.30 ± 0.15 , 10.10 ± 0.10 และ 8.30 ± 0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ ศึกษาประสิทธิภาพของก้ำเชื้อผสม 0.5% (w/v) *L. acidipiscis* (PL-T3) และ 0.5% (w/v) *L. plantarum* TISTR 854 ในการหมักปลาต้ม โดยเปรียบเทียบกับหมักปลาต้มตามธรรมชาติ ในระยะเวลา 14 วัน พบว่าปลาต้มที่หมักด้วยก้ำเชื้อผสมเกิดกระบวนการหมักได้รวดเร็วกว่าปลาต้มที่หมักตามธรรมชาติ วัดปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ $5.41 \pm 0.05\%$ (v/v) และ $4.14 \pm 0.06\%$ (v/v) ตามลำดับ

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ปลาต้ม แบคทีเรียกรดแลคติก
ความสามารถการต้านจุลินทรีย์

Abstract

Isolation and selection of lactic acid bacteria from Pla-som samples produced by the community enterprise for aquatic animal processing in Ban Buenaiyamu, Su-ngai padi District, Narathiwat province. A total of 7 bacteria isolates were obtained. All isolates were Gram-positive, consisting of rods and cocci. Six isolates were able to produce catalase enzymes, while one isolate did not show catalase activity. Sequence analysis and comparison with the NCBI database revealed that isolates PL-B1, PL-C2, and PL-T4 were identified as *Staphylococcus piscifermentans*, PL-C1 as *Staphylococcus carnosus*, and PL-T3 was identified as *Lactobacillus acidipiscis*. Subsequently, the antibacterial activity against the test bacteria was evaluated using the disk diffusion method. Isolate PL-T3 demonstrated inhibitory effects against test 3 strains, including *Bacillus subtilis* TISTR 2011, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, with inhibition zone diameters of 10.30 ± 0.15 , 10.10 ± 0.10 and 8.30 ± 0.57 mm, respectively. This study investigates the efficiency of a mixed starter culture containing 0.5% (w/v) *Lactobacillus acidipiscis* (PL-T3) and 0.5% (w/v) *Lactobacillus plantarum* TISTR 854 in the fermentation of Pla-som, compared to natural fermentation over a 14-day period. Pla-som fermented with mixed starter cultures was found to be fermented more rapidly than that fermented with natural fermentation. The maximum lactic acid content was $5.41 \pm 0.05\%$ (v/v) and $4.14 \pm 0.06\%$ (v/v), respectively.

Keywords: Fermented fish, Pla-som, Lactic acid bacteria, Antimicrobial activity

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

บทนำ

ปลาซั่ม เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักดองชนิดหนึ่งที่มีรสชาติเปรี้ยว ผ่านกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์และใช้ปลาน้ำจืดเป็นวัตถุดิบหลัก ในการเตรียมปลาหมักจะเติมส่วนผสมต่างๆ เช่น เกลือ ข้าวเจ้า หรือข้าวเหนียวบด พริกและกระเทียม เพื่อให้รสชาติปลาซั่มมีความกลมกล่อมมากขึ้น [1] ผลิตภัณฑ์ปลาซั่มถูกแปรรูปออกเป็นหลายประเภท เช่น ปลาซั่มตัดเป็นชิ้น ปลาซั่มทั้งตัว ปลาซั่มฟัก และปลาซั่มเส้น [2-3] ปัจจุบันมีการผลิตปลาซั่มกันอย่างแพร่หลาย ทั้งในระดับครัวเรือน ชุมชน และอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ด้วยปลาซั่มเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการแปรรูปปลาน้ำจืดและเป็นวิธีการถนอมอาหารในรูปแบบหนึ่ง ช่วยให้สามารถเก็บได้นานและปรุงอาหารได้หลายชนิด [4-5] ทำให้มีผู้สนใจทำปลาซั่มกันอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัดของประเทศไทยรวมถึงจังหวัดนราธิวาส ปัตตานี ยะลา และสงขลา เป็นต้น โดยปัจจุบันพบว่าประเทศไทยมีปริมาณการผลิตปลาซั่มอยู่ในช่วง 1,170-1,350 ตันต่อปี สร้างรายได้จากผลิตภัณฑ์ปลาซั่มคิดเป็นมูลค่ากว่า 60 ล้านบาทต่อปี [6]

แบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) เป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมักปลาซั่ม มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ติดสีม่วง แกรมบวก รูปร่างกลมและแท่ง มีการจัดเรียงตัวทั้งแบบสายโซ่และคู่ ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่มีสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน โดยลักษณะเด่นที่สำคัญของแบคทีเรียกรดแลคติก คือ สามารถผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์อย่างเดียวในกระบวนการหมัก (homofermentative fermentation) และกระบวนการหมักที่ให้กรดแลคติกร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นๆ (heterofermentative fermentation) [2, 7-8] มีรายงานสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่พบในปลาซั่มของไทยและในผลิตภัณฑ์ปลาหมักของต่างประเทศ เช่น *Lactobacillus pentosus*, *L. plantarum* subsp. *plantarum*, *L. paraplantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus* spp., *Lactococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Weissella* spp., *Enterococcus*

spp., *Streptococcus* spp., และ *Vagococcus* spp. [7, 9-10] เป็นต้น ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก (probiotic) มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารและลำไส้ให้ทำงานได้ดี ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและไวรัส [11-12]

วิสาหกิจชุมชนแปรรูปสัตว์น้ำบ้านป้อแนยาม อำเภอสู่ไหงปาตี จังหวัดนราธิวาส เป็นหนึ่งในวิสาหกิจชุมชนที่มีความสนใจผลิตปลาซั่ม เพื่อการถนอมอาหาร ใช้เวลาว่างให้เกิดประโยชน์และสร้างรายได้เข้าสู่ชุมชน โดยในกระบวนการหมักปลาซั่มนั้นจะเลือกใช้ปลาน้ำจืดที่พบในแหล่งธรรมชาติเป็นวัตถุดิบหลักและอาศัยกระบวนการหมักจากจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ในทางภูมิศาสตร์ของอำเภอสู่ไหงปาตีจะตั้งอยู่ในพื้นที่ราบลุ่มมีน้ำขังฝนตกชุกตลอดทั้งปี มีช่วงฤดูฝนนานกว่าฤดูร้อน สภาพอากาศมีความชื้นมากกว่าบริเวณอำเภออื่นๆ ส่งผลให้เกิดปัญหาในการควบคุมคุณภาพของการหมักปลาซั่มเนื่องจากอุณหภูมิไม่คงที่ ใช้ระยะเวลาหมักปลาซั่มนานเกินไป เสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ง่าย อาจจะสร้างความเสียหายให้กับผลิตภัณฑ์และเสียโอกาสในการจัดจำหน่าย ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงมีความสนใจที่จะคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในปลาซั่มและศึกษาความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบที่เป็นคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกเบื้องต้น รวมทั้งศึกษาประสิทธิภาพของกล้ำเชื้อบริสุทธิ์ผสมกับกล้ำเชื้อมาตรฐานเพื่อพัฒนากระบวนการหมักปลาซั่มให้มีคุณภาพและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค อีกทั้งช่วยส่งเสริมอุตสาหกรรมแปรรูปสัตว์น้ำพื้นบ้านของประเทศไทย

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การคัดแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์ปลา

วิธีการแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ดัดแปลงจากวิธีการของ Chemama et al. (2020) [13] เก็บตัวอย่างปลา 3 ชนิด ปลาตะเพียน (*Barbonymus gonionotus*) ปลาทูปิม (*Oreochromis niloticus* Linn.) และปลาช่อน (*Channa striatus*) ทั้งหมด 18 ตัวอย่าง จากวิสาหกิจชุมชนแปรรูปสัตว์น้ำบ้านป้อมน้อม อำเภอสว่างปาดะ จังหวัดนราธิวาส ซึ่งตัวอย่างละ 10 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่และเติม 0.85% (w/v) NaCl ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า (Shaking incubator, LSI-3016R/ LABTECH) ที่ความเร็ว 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำการเจือจางตัวอย่าง ten-fold serial dilution ที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-6} เท่า เลือกเฉพาะตัวอย่างที่ระดับความเจือจาง 10^{-3} ถึง 10^{-6} เท่า ทำการแยกเชื้อด้วยวิธี pour plate ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเลี้ยงและเทอาหาร Lactobacillus MRS agar (pH 5.7) (Himedia™, India) ที่ผสม 0.02% (w/v) bromocresol green (KemAs™, Australia) เป็นอินดิเคเตอร์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ (candle jar) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีของแบคทีเรีย LAB ที่เปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีเขียวเป็นสีเหลือง ทำการคัดแยกให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค cross streak และใส่ skim milk ผสมลงในหลอดที่มีเชื้อ LAB ที่คัดเลือกเพื่อป้องกันเซลล์แตกและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมทดสอบขั้นตอนต่อไป

2. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติก

2.1 ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ LAB ที่คัดแยกได้ เพื่อจัดจำแนกเชื้อโดยเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกของ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology เช่น การติดสีแกรม (Gram staining)

ลักษณะรูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง การสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ประเภทการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติก (fermentation type) และความสามารถในการทนเกลือที่ความเข้มข้น 2.5-7.0% NaCl (w/v) [8, 14]

2.2 ศึกษาลักษณะทางจีโนม

การสกัด gDNA ของ LAB ในตัวอย่างปลา สัมชนิดต่างๆ จะทำตามวิธีการของ Chemama et al. (2020) [13] และวิเคราะห์ความหลากหลาย โดยการทำเทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณยีน 16s rRNA โดยใช้ PCR ไพรมเมอร์ 27F (5'AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG) 3' และ 1492R (5' TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACTT) 3' เตรียมส่วนผสมทั้งหมดให้ได้ปริมาตร 25 μ l (gDNA, 25 mM MgCl₂ buffer, 2 mM dNTP, 0.15U/ μ l Taq DNA polymerase, 25 mM PCR buffer, 10 mM Reverse primer และ Forward primer) ในหลอดทดลอง microcentrifuge จากนั้นนำตัวอย่างไปดำเนินการต่อโดยใช้ Thermal cycle ที่ annealing อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส เวลา 1 นาที โดยทำทั้งหมด 30 cycle วิเคราะห์ผลผลิต PCR ด้วย 1.0% (w/v) agarose gel electrophoresis และย้อมสีด้วย ethidium bromide 10 นาที จากนั้นตรวจผลผลิต PCR ที่ได้ด้วยเครื่อง UV transilluminator (Bio-Rad™ Co., USA) โดยเปรียบเทียบกับ 1 kb DNA Ladder (RBC Bioscience) ส่งวิเคราะห์ผลผลิต PCR เพื่อหาลำดับเบสที่บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้

2.3 วิเคราะห์หาลำดับเบส

นำผลลำดับเบส (sequence) ที่ได้จัดการข้อมูลด้วยโปรแกรม Bio edit จากนั้นเปรียบเทียบรหัสพันธุกรรมที่ได้กับฐานข้อมูลใน GenBank® (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) และทำ Multiple alignment ด้วยโปรแกรม CLUSTAL X และจัดทำข้อมูลความสัมพันธ์ของ LAB ด้วยการทำ Phylogenetic tree โดยใช้โปรแกรม MEGA-7 เลือกวิธีการของ Neighbor-joining

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

3. ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบด้วยวิธี disk diffusion method ดัดแปลงจากวิธีการของ Hongsachart (2016) [4] แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus subtilis* TISTR 2011, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 ไอโซเลท LAB ที่แยกได้จะเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth (pH 5.7) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 48 ชั่วโมง แยกตะกอนเซลล์ออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยการนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge (MIKRO, 220 R Cooled) ความเร็ว 10,000 rpm ที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส 10 นาที เพื่อให้ได้ supernatant และก่อนนำไปทดสอบจะนำ supernatant ปรับ pH 7.0 ด้วยสารละลาย 5M NaOH ในการเตรียมเชื้อทดสอบ เช่น *B. subtilis* TISTR 2011, *E. coli* ATCC 25922 และ *P. aeruginosa* ATCC 10145 เพาะเลี้ยงในอาหาร Nutrient broth (NB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 เพาะเลี้ยงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 18 ชั่วโมง ในสถานะที่มีออกซิเจน จากนั้นทำ ten-fold serial dilution และปรับปริมาณเซลล์ให้มีค่าเท่ากับ 0.1 ด้วยเครื่อง spectrophotometer (METASH, UV-5200) ที่ความยาวคลื่น OD 600 nm ใส่เชื้อทดสอบลงในอาหาร Muller Hinton agar (MHA) แล้วทำการ swab เชื้อด้วยไม้พันสำลีที่ปลอดเชื้อ จากนั้นใส่ supernatant ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงใน sterile paper disk และวางลงบนอาหาร MHA ที่เตรียมไว้ โดยใช้สารปฏิชีวนะ Gentamycin (HiMedia®, Mumbai, India) เป็นตัวควบคุมบวก (positive control) และ MRS blank เป็นตัวควบคุมลบ (negative control) ตรวจผลการยับยั้งเชื้อ (clear zone) วัดจากเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งและบันทึกผลเป็นหน่วย มิลลิเมตร

4. การเตรียมกล้าเชื้อด้วยวิธีทำแห้ง

เตรียมกล้าเชื้อด้วยวิธีทำแห้ง (freeze drying) ดัดแปลงวิธีของ Champagne et al. (1991) [15] นำ LAB *Lactobacillus acidipiscis* (PL-T3) และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 854 ที่ได้รับจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) นำมาเลี้ยงในอาหาร MRS broth (pH 5.7) ปริมาตร 500 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง และวัดการเจริญของเชื้อโดยใช้เครื่อง spectrophotometer (Scitex, SP-UV 759), OD 600 nm เพื่อกำหนดความเข้มข้นของกล้าเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 10^7 - 10^8 CFU/ml จากนั้นทำการแยกเซลล์ออกจากด้วยเครื่อง Centrifuge (MIKRO, 220 R Cooled) ความเร็ว 10,000 rpm อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส 10 นาที นำตะกอนเซลล์ที่ได้ใส่ลงในหลอดเก็บเชื้อ (ampoule) และเติม 10% (v/w) skim milk ลงไปผสมในหลอดเก็บเชื้อเพื่อป้องกันเซลล์แตก นำเซลล์ไปทำแห้งด้วยวิธีแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-drying)

5. ศึกษาประสิทธิภาพของกล้าเชื้อผสม

ศึกษาประสิทธิภาพของการหมักปลาสดที่ใช้กล้าเชื้อผสม (mixed starter culture) ปลาตะเพียน น้ำหนัก 1 กิโลกรัม ใส่เกลือและข้าวเหนียวบดลงไป คลุกเคล้าผสมให้ทั่วเนื้อปลา จากนั้นใส่กล้าเชื้อลงไป ปริมาตร 0.5% (w/v) *Lactobacillus acidipiscis* (PL-T3) และ 0.5% (w/v) *Lactobacillus plantarum* TISTR 854 แล้วนำไปใส่โถหมักที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเนื้อปลาและน้ำหมัก ในช่วงระหว่างการหมักตั้งแต่วันที่ 0 2 4 6 8 10 12 และ 14 วัน ครั้งละ 100 กรัม เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้ โดยใช้วิธีของ AOAC [16] ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

6. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์ทางสถิติ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized, CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ผลการ

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

ทดลองทั้งหมดแสดงเป็นค่าเฉลี่ยและค่าความคาดเคลื่อนมาตรฐาน จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดวิเคราะห์ความแปรปรวนใช้วิธี (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างทางค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Rang Test ด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ SPSS Version 16.0 (IBM, SPSS, Inc.)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากปลาสาม

ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างปลาสาม 3 ชนิด ได้แก่ ปลาตะเพียน (*Barbonymus gonionotus*) ปลาทับทิม (*Oreochromis niloticus* Linn.) และปลาช่อน (*Channa striatus*) ทั้งหมด 18 ตัวอย่าง โดยใช้อาหาร MRS (Himedia™, India) ผลการศึกษาพบว่า แบคทีเรียเจริญบนอาหาร MRS agar และสร้างกรด โดยเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีเขียวเป็นสี

เหลือง นับจำนวนแบคทีเรียได้ทั้งหมด 7 ไอโซเลท คือ PL-C1, PL-C2, PL-T1, PL-T2, PL-T3, PL-T4 และ PL-B1 โคโลนีมีลักษณะกลมเล็ก สีขาวขุ่น เมื่อศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าทั้ง 7 ไอโซเลท ติดสีแกรมบวก (positive) มีรูปร่างแท่ง (rod) และกลม (cocci) จากนั้นทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลส พบว่ามี 6 ไอโซเลท แสดงผลเป็นบวก และ 1 ไอโซเลทแสดงผลอะไมเลสลบ ทำการทดสอบประเภทการหมักพบว่า ไอโซเลทที่แยกได้นั้นจัดอยู่ในกลุ่ม Homo-fermentative และ Hetero-fermentative และสามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.5-5.0% (w/v) ได้ทำการวัดปริมาณกรดทั้งหมดพบว่า ไอโซเลท PL-T3 สร้างกรดได้สูงสุดเท่ากับ 2.16% (v/v) ในขณะที่ไอโซเลท PL-T1 และ PL-T2 ผลิตกรดได้น้อยที่สุด (Table 1) ดังนั้น จึงเลือกไอโซเลทที่ผลิตกรดได้ดีที่อยู่ในช่วง 0.84-2.16% (v/v) ทำการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียต่อไป

Table 1 Morphological characteristics of bacteria isolates

Fermented fish	Isolate	Gram stain	Cell shape	Catalase test	Fermentation type	Concentration of NaCl (% w/v)				Total acidity (% (v/v))
						0.0	2.5	5.0	7.0	
Silver barb	PL-T1	positive	cocci	positive	Hetero	+	-	-	-	0.39
	PL-T2	positive	cocci	positive	Hetero	+	-	-	-	0.37
	PL-T3	positive	rod	negative	Homo	+	+	+	-	2.16
	PL-T4	positive	cocci	positive	Hetero	+	+	-	-	0.84
Nile tilapia	PL-B1	positive	cocci	positive	Hetero	+	+	-	-	0.93
Snack head fish	PL-C1	positive	cocci	positive	Hetero	+	+	+	-	1.27
	PL-C2	positive	cocci	positive	Hetero	+	+	-	-	0.87

Legend: (Homo) Homofermentative, (Hetero) Heterofermentative, (+) growth, (-) no growth

2. การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่คัดแยกจากปลาสาม

นำแบคทีเรียไอโซเลทที่สามารถเจริญในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2.5% (w/v) และผลิตกรดได้ดี แสดงผลการทดลองใน Table 1 ทำการวิเคราะห์หาลำดับเบสและเปรียบเทียบสายพันธุ์ในฐานข้อมูล NCBI โดยใช้โปรแกรม BLAST ผลการตรวจ

วิเคราะห์พบว่า ไอโซเลท PL-B1, PL-C2 และ PL-T4 คือ สายพันธุ์ *Staphylococcus piscifermentans* (ที่ระดับความเหมือนร้อยละ 100) ไอโซเลท PL-C1 คือ *Staphylococcus carnosus* (ที่ระดับความเหมือนเท่ากับร้อยละ 100) และ ไอโซเลท PL-T3 คือ สายพันธุ์ *Lactobacillus acidipiscis* (ที่ระดับความเหมือนร้อยละ

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

100) (Figure 1) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Tanasupawat et al. (1992) [17] ที่ค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus piscifermentans* และ *Staphylococcus carnosus* ครั้งแรกในตัวอย่างปลาสดของไทย ซึ่งเป็นสายพันธุ์ประจำถิ่นที่พบได้บนผิวหนังของปลาน้ำจืด และการรายงานของ Tanasupawat et al. (2000) [18] ที่คัดแยก *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. และ *Weissella thailandensis* sp. nov. จากตัวอย่างปลาสดของประเทศไทย และ *Lactobacillus plantarum* HL-12 และ *L. fermentum* ถูกคัดแยกจากจากตัวอย่างอาหารหมักดองพื้นบ้านของไทย [11] นอกจากนี้ ปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการหมักเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมธรรมชาติได้ ตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Siriporkiti (2020) [3] ได้ศึกษาผลของคาร์โบไฮเดรตและอุณหภูมิในการเก็บรักษาคุณภาพของปลาสดเส้นพบว่าสามารถจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Homofermentative โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้มีความสามารถเจริญในสภาพแวดล้อมที่มีความเข้มข้นของเกลือสูงได้เป็นอย่างดี และรายงานของ Pederson and Albury (1969) [19] ศึกษาผลของความเข้มข้นเกลือที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงของ LAB และปริมาณกรดแลคติกในอาหารหมักดอง พบว่าอาหารหมักดองที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 1-2.5% (w/w) จะมีแบคทีเรียกลุ่ม Heterofermentative เจริญได้ เช่น *Lactobacillus mesenteroides* และ *Lactobacillus brevis* ส่วนในอาหารหมักดองที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 3.5% (w/w) จะพบแบคทีเรียกลุ่ม Homofermentative เช่น *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* สามารถเจริญได้

3. การทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ (clear zone) พบว่า ไอโซเลท PL-T3

มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus subtilis* TISTR 2011 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 10145 โดยแสดงผลการยับยั้ง *B. subtilis* TISTR 2011 สูงสุดเท่ากับ 10.30 ± 0.15 มิลลิเมตร รองลงมา คือ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 10.10 ± 0.10 และ 8.30 ± 0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ (Figure 2) ผลการยับยั้งเชื้อทดสอบ อาจะมาจากฤทธิ์ของแบคทีเรียโอซินหรือสารอินทรีย์ชนิดอื่นที่เชื้อผลิตขึ้นได้แก่ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ รูเทอริน อะซิติกแอซิด และไดอะซิติก [11, 20, 21] และจากผลการทดลองข้างต้น มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhao et al. (2024) [12] ที่ทำการแยกและคัดเลือก LAB ที่มีคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกส์จากเนื้อหมักแบบดั้งเดิม ซึ่งพบว่า LAB สายพันธุ์ *Lactilactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactiplantibacillus*, *Fructilactobacillus*, *Lactococcus* และ *Lactobacillus* มีความสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium และ *L. monocytogenes* ได้ และงานวิจัยของ Vangpikul and Itsaranuwat (2021) [11] ที่พบว่า LAB ที่คัดแยกจากผักดองพื้นบ้านของไทยนั้น สามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *B. cereus* ได้ โดยเกิดบริเวณส่วนใสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการยับยั้งมากกว่า 2 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตาม LAB ไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* นอกจากนี้มีรายงานของ Ren et al. (2018) [22] ที่แยก LAB จากอาหารหมักประเทศจีนพบว่าแบคทีเรียชนิด *L. plantarum*, *L. pentosus*, และ *L. paracasei* สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ได้ จากการทดสอบข้างต้นที่พบว่าเชื้อ *L. acidipiscis* (PL-T3) ผลิตกรดได้สูงสุดเท่ากับ 2.16% (v/v) และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบจึงมีความน่าสนใจในการนำมาผลิตเป็นก้ำเชื้อสำหรับการหมักปลาสดในครั้งต่อไป

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

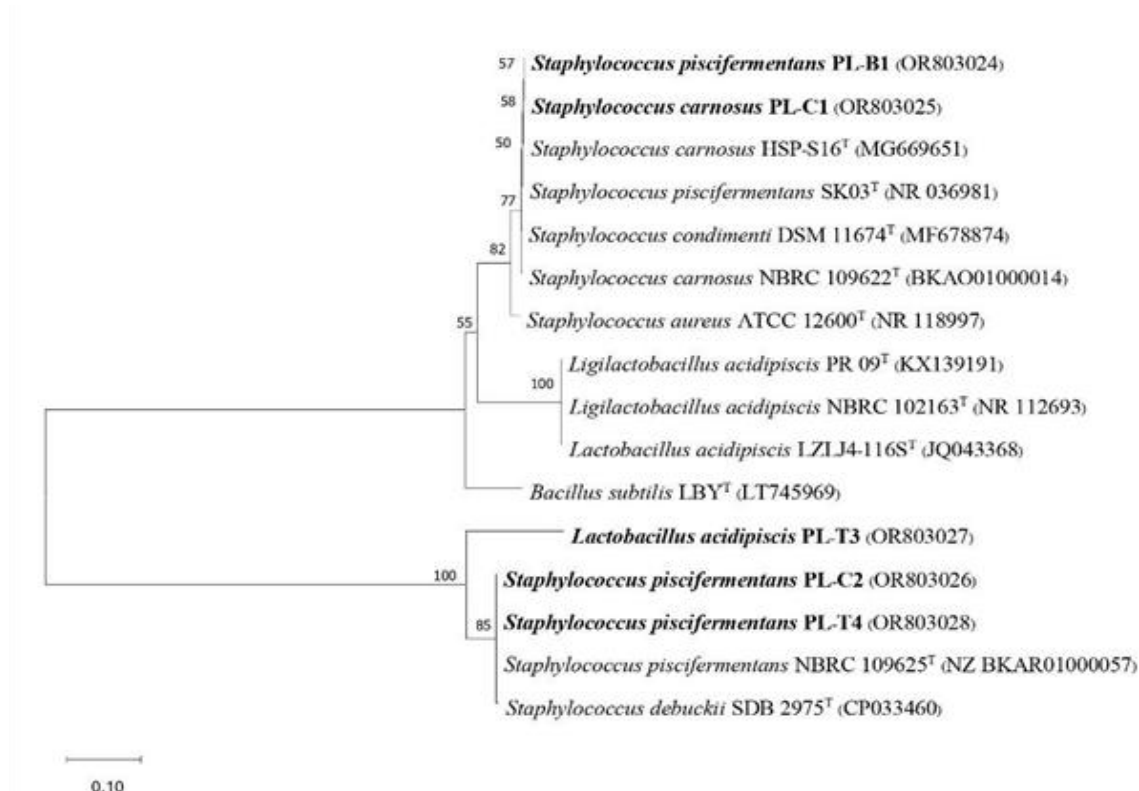


Figure 1 Phylogenetic tree relationships of the isolate (bold) PL-B1, PL-C1, PL-C2, PL-T3 and PL-T4 in comparison with some species of genera *Staphylococcus* and *Lactobacillus* based on 16S rRNA gene sequence. The branching pattern was generated by the Neighbor-Joining method in MEGA11 software. Percentages of replicate trees in which the associated taxa clustered together in more than 50% of the bootstrap test (1000 interactions) are shown next to branches. The number on the branches indicated the bootstrap values and the accession numbers are displayed in parentheses after the name of the strain. Scale bar, 0.10, represents substitutions per nucleotide position. *Bacillus subtilis* LBYT (LT745969) is presented as out group sequence

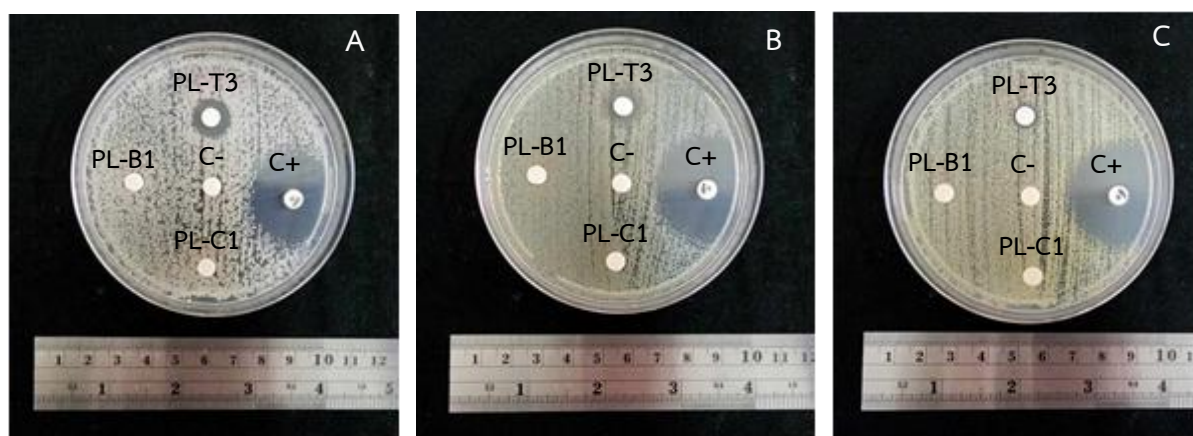


Figure 2 Inhibition zone of LAB isolates were shown for bacterial pathogens (A) *Bacillus subtilis* TISTR 2011 (B) *Escherichia coli* ATCC 25922 (C) *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 using the disk diffusion assay. The clear zone was compared with Gentamycin as a positive control (C+) and MRS blank as a negative control (C-)

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุฒนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

4. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของกล้าเชื้อผสมสำหรับหมักปลาซอม

ผลการศึกษาประสิทธิภาพของการหมักปลาซอมที่ใช้กล้าเชื้อผสมระหว่างสายพันธุ์ 0.5% (w/v) *L. acidipiscis* (PL-T3) และ 0.5% (w/v) *L. plantarum* TISTR 854 (เชื้อมาตรฐาน) เปรียบเทียบกับการหมักปลาซอมที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก 14 วัน ผลการทดลองพบว่า การหมักปลาซอมที่ใช้กล้าเชื้อผสมนั้นเกิดกระบวนการหมักได้รวดเร็วกว่าการหมักจากเชื้อที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ ซึ่งกระบวนการหมักจะเริ่มตั้งแต่วันที่ 0-2 โดยเชื่อจะมีการเจริญได้อย่างรวดเร็วและเมื่อหมักต่อจนครบ 14 วัน แสดงการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ $5.41 \pm 0.05\%$ (v/v) ในขณะที่การหมักปลาซอมที่หมักโดยเชื้อที่เกิดขึ้นตามธรรมชาตินั้น กระบวนการหมักจะเกิดขึ้นได้ดีหลังจากที่เริ่มหมักวันที่ 4 และมีปริมาณกรดทั้งหมดเท่ากับ $4.14 \pm 0.06\%$ (v/v) ซึ่งน้อยกว่าปลาซอมที่เติมกล้าเชื้อผสม ดังนั้น จึงเห็นได้ว่าการหมักปลาซอมที่เติมกล้าเชื้อผสมจะช่วยเร่งทำให้เกิดกระบวนการหมักได้เร็วขึ้น เนื่องจากการเติมกล้าเชื้อที่แข็งแรงและมีปริมาณที่เหมาะสมต่อน้ำหนัก

ปลาจะช่วยลดระยะ lag phase ให้สั้นลงในขั้นตอนการเริ่มหมักได้ อีกทั้งมีความสามารถเจริญในสภาพแวดล้อมที่มีเกลือและน้ำตาลสูงได้ [23] ตามรายงานของ Saitong et al. (2010) [24] ที่พบว่าการใช้ *L. plantarum* IFRPD P15 เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น จะช่วยเร่งกระบวนการหมักปลาซอมได้ดีกว่าการหมักปลาซอมที่ไม่ได้เติมกล้าเชื้อ และผลิตกรดแลคติกสูงหลังจากเริ่มหมักเป็นเวลา 2 วัน ส่วนรายงานของ Reibroy et al. (2008) [25] ใช้ระยะเวลา 2 วันในการหมักปลาซอมฟักจากกล้าเชื้อ *L. plantarum* PA104 นอกจากนี้ การหมักปลาซอมโดยใช้กล้าเชื้อผสมจะช่วยลดปริมาณสารไบโอเจนิคเอมีนที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักปลาซอมได้ดีกว่าการหมักปลาซอมจากเชื้อตามธรรมชาติ [26] ดังนั้นการนำกล้าเชื้อผสมไปใช้ในการหมักปลาซอมจึงมีความน่าสนใจที่จะนำไปใช้ เพื่อช่วยลดระยะเวลาการหมักและลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาซอมมีความปลอดภัย และได้มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 26/2557) กำหนด ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด *Escherichia coli* ยีสต์ รา และพยาธิ รวมถึงการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Clostridium perfringens*

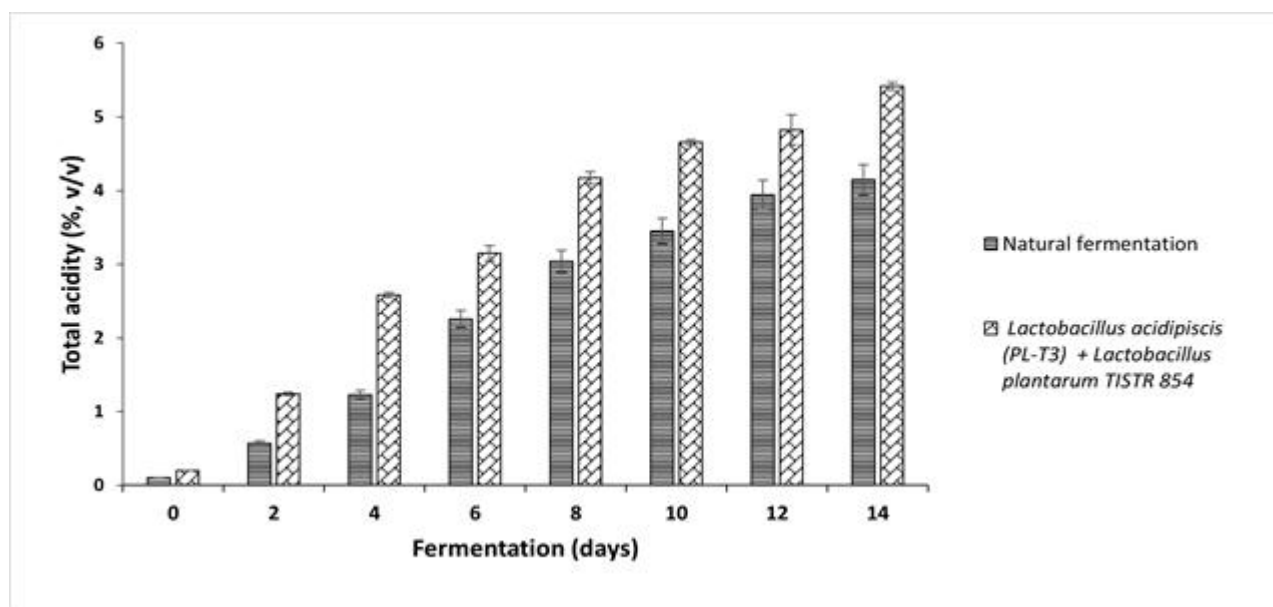


Figure 3 Total acid content of Pla-Som using mixed starter culture (0.5% (w/v) *L. acidipiscis* (PL-T3) and 0.5% (w/v) *L. plantarum* TISTR 854), and natural fermentation. Values are presented as mean $\pm$ SD (n = 3)

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

สรุปผล

คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidipiscis* (PL-T3) และแบคทีเรียสายพันธุ์ *Staphylococcus piscifermentans* (PL-B1, PL-C2, PL-T4) และ *Staphylococcus carnosus* (PL-C1) จากตัวอย่างปลาสดในพื้นที่จังหวัดนราธิวาส เมื่อวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดและความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบพบว่า *L. acidipiscis* (PL-T3) ผลิตกรดได้สูงสุดในจำนวนไอโซเลตที่แยกได้ และสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบชนิด *B. subtilis* TISTR 2011, *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ได้ ดังนั้นจึงนำ *L. acidipiscis* (PL-T3) ผลิตเป็นกล้าเชื้อ โดยนำมาผสมกับกล้าเชื้อมาตรฐาน *L. plantarum* TISTR 854 ในการหมักปลาสด และเปรียบเทียบกับปลาสดที่หมักโดยเชื้อธรรมชาติ เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าปลาสดที่หมักด้วยกล้าเชื้อผสมนั้นเกิดกระบวนการหมักได้รวดเร็วกว่าปลาสดที่หมักจากเชื้อธรรมชาติ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (กองทุนส่งเสริม ววน.) และหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนาระดับพื้นที่ บพท. ได้รับการสนับสนุนด้านการประสานงานกับเครือข่ายในพื้นที่จากสำนักงานสภาเกษตรจังหวัดนราธิวาสและประมงอำเภอสุไหงปาดี ได้รับการสนับสนุนตัวอย่างปลาสดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนแปรรูปสัตว์น้ำบ้านบือแนยามู ได้รับการสนับสนุนเชื้อมาตรฐานสำหรับการวิจัยจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ได้รับการสนับสนุนเครื่องมืออุปกรณ์และห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาสำหรับทำวิจัยจากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- [1] Tharmabalan, R.T., Rusli, S.A., Lo, R., Saidin, N.F.B. and Basar, Z. (2025). From tradition to table: An introduction to the culture and nutritional significance of Malaysian fermented foods products. *Journal of Ethnic Foods*. 12(18): 1-16. doi:10.1186/s42779-025-00278-2.
- [2] Phutubtim, N. and Saejung, W. (2016). Selection of lactic acid bacteria and using as a starter culture in Thai traditional fermented fish (Pla-Som). *Thai Science and Technology Journal*. 24(6): 952-967. (in Thai).
- [3] Siripornkiti, W. (2020). Effects of carbohydrates and storage temperatures on the quality of fermented fish stick (Pla-Som). *Fisheries Industrial Technology Research and Development Division, Department of Fisheries* (pp. 1-29). https://www.fisheries.go.th/local/file_document/20200928154550_1_file.pdf
- [4] Hongsachart, P. (2016). Isolation and determination of antimicrobial activity of lactic acid bacteria from fermented fish product, Pla-Som. *KKU Science Journal*. 44(2): 318-330. (in Thai).
- [5] Cai, H., Tao, L., Zhou, X., Liu, Y., Sun, D., Ma, Q., Yu, Z. and Jiang, W. (2024). Lactic acid bacteria in fermented fish: enhancing flavor and ensuring safety. *Journal of Agriculture and Food Research*. 16: 1-13. doi:10.1016/j.jafr.2024.101206.
- [6] Department of fisheries. (2023). Fish production in Thailand. Ministry of Agriculture and Cooperatives, [Online] Available from <https://www.oae.go.th/home/jobs.htm>. [Accessed August 12, 2025]. (in Thai).

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

- [7] Sanpa, S., Sanpa, S. and Suttajit, M. (2019). Lactic acid bacteria isolate from Pla-som, their antimicrobial activities and fermentation properties in Pla-som. *Journal of Food Health and Bioenvironmental Science*. 12(1): 36-43. doi:10.6133/apjcn.201903/PP.0008.
- [8] Rahman, Md. S., Emon, D.D., Nupur, A.H., Mzumder, Md. A.R., Iqbal, A. and Alim, Md. A. (2024). Isolation and characterization of probiotic lactic acid bacteria from local yogurt and development of inulin-based symbiotic yogurt with isolated bacteria. *Applied Food Research*. 4(2): 1-9. doi:10.1016/j.afres.2024.100457.
- [9] Meidong, R., Suksawat, P. and Thipsing, S. (2021). Screening of lactic acid bacteria with potential properties from fermented food products. *Advanced Science Journal*. 21(1): 102-118.
- [10] Belleggia, L. and Osimani, A. (2023). Fermented fish and fermented fish-based products, an ever-growing source of microbial diversity: a literature review. *Food Research International*. 172: 1-52. doi:10.1016/j.foodres.2023.113112.
- [11] Vangpikul, S. and Itsaranuwat, P. (2021). Isolation and selection of lactic acid bacteria with potential probiotics from traditional Thai local pickle products. *RMUTSB Academic Journal*. 9(2): 150-163. (in Thai).
- [12] Zhao, J., Zhao, J., Zang, J., Peng, C., Li, Z. and Zhang, P. (2024). Isolation, identification, and evaluation of lactic acid bacteria with probiotic potential from traditional fermented source meat. *Frontier in Microbiology*. 15: 1-12. doi:10.3389/fmicb.2024.1421285.
- [13] Chemama, T., Pumas, C., Tragoolpua, Y. and Thongwai, N. (2020). Feasibility study for D-lactic acid production from Thai rice by *Leuconostoc pseudomesenteroides* TC49 and D-lactic acid purification. *Chiang Mai Journal of Science*. 47(3): 403-417. (in Thai).
- [14] De Vos, P., Garrity, G.M., Jones, D., Krieg, N.R., Ludwig, W., Rainey, F.A., Schleifer, K., and Whitman, W.B. (Eds.). (2009). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (3rd ed.). Springer. New York.
- [15] Champagne, C.P., Gardner, N., Brochu, E. and Beaulieu, Y. (1991). The freeze-drying of lactic acid bacteria. A review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*. 24(3-4): 118-128. doi:10.1016/S0315-5463(91)70034-5.
- [16] AOAC. (1990). *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists* (15th). USA: The Association of Official Analytical Chemists.
- [17] Tanasupawat, S., Hashimoto, Y., Ezaki, T., Kozaki, M. and Komakata, K. (1992). *Staphylococcus piscifermentans* sp. nov., from fermented fish in Thailand. *International Journal of Systematic Bacteriology*. 42(4): 577-581.
- [18] Tanasupawat, S., Shida, O., Okada, S. and Komakata, K. (2000). *Lactobacillus acidipiscis* sp. nov. and *Weissella thailandensis* sp. nov., isolated from

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุฒนครินทร์¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University

- fermented fish in Thailand. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50: 1479-1485.
- [19] Paderson, C.S. and Albury, M.N. (1969). The sauerkraut fermentation (Bulletin No. 824, pp. 824-857). New York State Agricultural Experiment Station. <https://ecommons.cornell.edu/bitstream/handle/1813/4794/bulletin824.pdf?sequence=1>
- [20] De Vuyst, L. and Vandamme, E. (1994). Lactic acid bacteria and bacteriocins: their practical importance. In L. De Vuyst & E. Vandamme (Eds.), Bacteriocins of lactic acid bacteria: Microbiology, genetics and applications (pp.1-11). doi:10.1007/978-1-4615-2668-1_1.
- [21] Sanam, M., Detha, A.I.R. and Rohi, N.K. (2022). Detection of antibacterial activity of lactic acid bacteria, isolated from Sumba mare's milk, against *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*. Journal of Advanced Veterinary and Animal Research. 9(1): 53-58. doi:10.5455/javar.2022.i568.
- [22] Ren, D., Zhu, J., Gong, S., Liu, H. and Yu, H. (2018). Antimicrobial characteristics of lactic acid bacteria isolated from homemade fermented foods. BioMed Research International. 2018: 1-9. doi:10.1155/2018/5416725.
- [23] Cha, Y.J. and Yu, D. (2024). Health benefits and functions of salt-fermented fish. Journal of Ethnic Foods. 11(34): 1-17. doi:10.1186/s42779-024-00251-5.
- [24] Saithong, P., Panthavee, W., Boonyaratanakornkit, M. and Sikkhamondhol, C. (2010). Use of a starter culture of lactic acid bacteria in Plaa-som, a Thai fermented fish. Journal of Bioscience and Bioengineering. 110(5): 553-557. doi:10.1016/j.jbiosc.2010.06.004.
- [25] Riebroy, S., Benjakul, S. and Visessanguan, W. (2008). Properties and acceptability of Som-fug, a Thai fermented fish mince, inoculated with lactic acid bacteria starter. Journal of Food Microbiology. 41(4): 569-580. doi:10.1016/j.lwt.2007.04.014.
- [26] Chaikum, P., Bua-aui, N. and Kreungngern, D. (2017). Some attributes of *Plaa-som* containing various Thai native rice cultivars. The Golden Teak: Science and Technology Journal. 4(2): 23-34. (in Thai).

*Corresponding author e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

¹คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุฒนครินทร์

¹Faculty of Science and Technology, Princess of Narathiwat University