

ชื่อวิทยานิพนธ์ การผลิตสารยับยั้งของแบคทีเรีย *Lactobacillus* ที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านของไทย

ผู้เขียน นางสาวศศิธร บัวเกต

สาขาวิชา จุลชีววิทยา

ปีการศึกษา 2547

บทคัดย่อ

ผลของ culture broth ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* 4 สายพันธุ์ คือ *L. plantarum* A49a, *L. plantarum* A61a, *Lactobacillus* sp. P5 และ *Lactobacillus* sp. A2 ที่แยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านของไทยเมื่อเลี้ยงในพลาสติก ต่อการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 พบว่า เชื้อ 3 สายพันธุ์แรกสร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 °ซ โดยไม่มีการเขย่า ในขณะที่ *Lactobacillus* sp. A2 สร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 35 °ซ และมีการเขย่า 150 rpm เชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์สร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดในอาหาร de Man Rogosa and Sharpe (MRS) และอาหาร Coconut juice (CJ) การสร้างสารยับยั้งของเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์เกิดขึ้นได้แม้ในสภาวะที่มีการจำกัดการสร้างกรดอินทรีย์และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ นอกจากนี้พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้มากกว่าเชื้อ *Lactobacillus* สายพันธุ์ใกล้เคียง และยับยั้งเชื้อก่อโรคที่เป็นแกรมลบได้ด้วยการสร้างสารยับยั้งสัมพันธ์กับการเจริญของเชื้อ โดย *Lactobacillus* sp. A2, *L. plantarum* A49a และ *L. plantarum* A61a สร้างสารยับยั้งได้มากที่สุดในระยะที่เข้าสู่การเจริญคงที่ โดย *L. plantarum* A49a ซึ่งสร้างสารยับยั้งได้สูงสุด สามารถเติบโตและสร้างสารยับยั้งในอาหาร MRS broth และ CJ broth ได้ไม่แตกต่างกัน

โปรตีนที่ได้จากการตกตะกอน culture broth จากการเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* A49a ที่ความเข้มข้นแอมโมเนียมซัลเฟต 50-70 % ให้ผลการยับยั้งสูงสุด นอกจากนี้พบว่าสารยับยั้งที่ได้มีสมบัติในการทนความร้อนที่อุณหภูมิ 121 °ซ นาน 15 นาที มีความไวต่อเอนไซม์ catalase และเอนไซม์ย่อยโปรตีน แต่ไม่ไวต่อเอนไซม์ α -amylase และ

สามารถทำลาย เชื้อ *S. aureus* ATCC 29213 ได้หมดในเวลา 4 ชั่วโมง ดังนั้นสารยับยั้งนี้ จึงมีคุณสมบัติคล้ายกับแบคเทอริโอซิน

เมื่อนำ *L. plantarum* A49a มาเลี้ยงแบบ batch โดยใช้ถังหมักแบบ stirred tank ขนาด 5 ลิตร ที่บรรจุอาหาร CJ ปริมาตร 3.5 ลิตร พบว่าเชื้อเติบโตและสร้างสารยับยั้งได้ดีที่สุดเมื่อไม่มีการควบคุม pH ให้อากาศ 0.5 vvm และมีอัตราการกวน 80 rpm โดยเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อให้ได้สารยับยั้งมากที่สุดในถังหมักเร็วกว่าในพลาสติกคือ 22 ชั่วโมง ส่วนในพลาสติกใช้เวลา 30 ชั่วโมง

proteolytic enzymes, but resistant to α -amylase and completely inhibited *S. aureus* ATCC 29213 within 4 hours. The substances had bacteriocin-like properties.

A 5 L stirred tank fermentor containing 3.5 liter of CJ medium was used to grow *L. plantarum* A49a. Optimum conditions for maximum growth and production of inhibitory substances were, uncontrolled pH, an aeration rate of 0.5 vvm and an agitation speed of 80 rpm. The time taken for maximum production was 22 hour compared to 30 hours for flask cultivation.