รายงานการวิจัย

การคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียแลกติกสำหรับเสริมอาหารสุกรในรูปเชื้อแห้ง

Selection of probiotic lactic acid bacteria for swine feed supplement in dry form

รศ. วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล

รศ. ดร. ดวงพร คันธโชติ

ภาควิชาจุลชีววิทยา

คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ปีงบประมาณ 2549-2550

บทคัดย่อ

การแยกแบคทีเรียแลกติกจากมูลสุกรจำนวน 250 ตัวอย่าง สามารถแยกแบคทีเรียแลกติกได้ 306 ไอโซเลท นำแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้มาทดสอบสมบัติการเป็นโปรไบโอติก ได้แก่ การทนเกลือน้ำดีที่มีความเข้มข้น 0.30% การทนกรดที่ระดับพีเอช 3 การเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มี และไม่มีออกซิเจน เจริญในอาหารที่ขาดวิตามิน B 12 สามารถย่อยโปรตีน ไขมัน แป้ง และยับยั้งเชื้อ β-hemolytic *Escherichia coli* จากมูลลูกสุกรท้องร่วงได้ดี สามารถคัดเลือกเชื้อที่มีสมบัติดังกล่าวได้ 7 ไอโซเลท โดยพบว่าการยับยั้งดังกล่าวเกิดจากกรดอินทรีย์เป็นสารหลักโดยมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และสารพวกโปรตีนร่วมด้วยเล็กน้อย แบคทีเรียแลกติกทั้ง 7 ไอโซเลทมีสมบัติเหมาะสมในการผลิตในรูปเชื้อแห้งและการเพิ่มจำนวนก่อนใช้ได้แก่การทนอุณหภูมิสูง ทนสารกันรา การเจริญในที่มีเกลือแกง การเจริญในน้ำต้มกากถั่วเหลืองและน้ำมะพร้าว เมื่อบ่งชี้ชนิดด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป API 50 CHL พบว่าเชื้อแบคทีเรียแลกติกทุกไอโซเลทเป็น *Lactobacillus plantarum*

เมื่อนำแบคทีเรียแลกติกที่คัดเลือกได้ไปผลิตเชื้อแห้งโดยใช้รำละเอียดบรรจุในถุงพลาสติกทนร้อน จะได้เชื้อแห้งที่มีจำนวนเชื้อ 7.77 – 8.58 logcfu/g มีความชื้นประมาณ 18-20 % และมีค่าพีเอชอยู่ระหว่าง 5.35-5.92 เมื่อนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 °C 8 ชม จะทำให้เชื้อแห้งมีความชื้นต่ำกว่า 13 % เมื่อนำเชื้อแห้งที่เตรียมได้ เก็บในตู้เย็น (6-8 °C) และอุณหภูมิห้อง(28-30 °C) จนครบ 2 เดือนพบว่าเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 1 เดือนเชื้อจะลดจำนวนลงไม่ถึง 1 log และ ประมาณ 2 log ตามลำดับและเมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 2 เดือนเชื้อจะลดลงประมาณ 1-2 log และ 4-5 log ตามลำดับ และเมื่อนำเชื้อแห้งที่เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 เดือนมาเพิ่มจำนวนในน้ำต้มกากถั่วเหลือง 5 %ในน้ำมะพร้าวที่เติม เกลือแกง 3 % กรดโปรปิโอนิค 0.3 % พีเอช 5.0 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 7 ไอโซเลท สามารถเพิ่มจำนวนจาก 10^4 เป็น 10^8 เซลล์ต่อมลได้ที่อุณหภูมิห้องในเวลา 48 ชั่วโมง

Abstract

A total of 306 isolates of lactic acid bacteria (LAB) were isolated from 250 samples of piglet feces. The important criteria for selecting probiotic LAB strains are abilities to inhibit β -hemolytic *Escherichia coli*, which isolated from feces of a diarrhea piglet and to grow in 0.30% bile salt, pH 3, both in absent and present of oxygen, and B12 free medium. In addition, utilizations of protein, lipid and starch are considered for selection as they help to obtain more benefits from probiotic strains. According to probiotic properties as mentioned above, 7 selected isolates produced organic acids as a main antibacterial substance with minor substances of hydrogen peroxide and bacteriocins. Interestingly, all selected strains exploited benefit by maintaining in a dry form because of their resistances to high temperature and fungal preservatives. Besides, they could proliferate well prior to use in a medium consisted of NaCl, soybean solid waste and coconut water. They were identified using a test kit API 50 CHI and all of them were *Lactobacillus plantarum*.

All selected strains were individually maintained in a dry form using rice bran as a supporter, which filled in a heat resistant plastic bag. A dry form of probiotic LAB strains had moisture contents in a range of 18-20% while pH was between 5.35-5.92. The dry culture form provided viable cells in a range of 7.77-8.58 log cfu/g. The moisture content was decreased to less than 13% by incubating the dry culture form at 50°C for 8 hr to extend its shelf life. After that they were separately kept in a refrigerator (6-8°C) and room temperature (28-30°C) for 1 and 2 months. One month storage, viable cells decreased less than 1 log cycle at a fridge and about 2 log cycles at a room temperature. However, 2 months storage a big decrease of viable cells was found in both conditions as 1-2 log cycles and 4-5 log cycles, respectively. After one month storage, starter cultures in a dry form were repropagated in a coconut water medium containing 5% soybean solid waste, 3% NaCl, 0.3% propionic acid and pH 5 led to an increase of each probiotic strain from 4 log cfu/g to 8 log cfu/g over 48 hr incubation.