

ชื่อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกโปรไบโอติกจากสัตว์ทะเลและการใช้สารสกัดจากพืชหัวเป็นพรีไบโอติก
ผู้เขียน	นางสาวนิรัญญา บุญดิน
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีกิจกรรมยับยั้ง *Escherichia coli* จากทางเดินอาหารของปลา กุ้ง และ หอยจากทะเล พบว่าสามารถแยกและคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกได้ 160 สายพันธุ์ โดยได้จากทางเดินอาหารปลา กุ้ง และหอยจำนวน 116, 20 และ 24 สายพันธุ์ ตามลำดับ เมื่อนำทั้ง 160 สายพันธุ์ ไปทดสอบการทนต่อเกลือ น้ำดีที่ความเข้มข้น 2000, 3000 และ 4000 พีพีเอ็ม พบว่ามี 19 สายพันธุ์ ที่สามารถทนต่อเกลือ น้ำดีความเข้มข้น 4000 พีพีเอ็ม ซึ่งเมื่อนำไปทดสอบการทนกรดที่พีเอช 1, 2, 2.5 และ 3 เป็นเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง พบว่ามี 3 สายพันธุ์ คือ AIa1, APa4 และ ARa1 ที่สามารถทนพีเอช 2, 2.5 และ 3 เป็นเวลา 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. และ *Listeria monocytogenes* โดยวิธี agar well diffusion แต่จะสูญเสียกิจกรรมการยับยั้งเมื่อนำน้ำหมักมาปรับพีเอชเป็นกลาง และเติมเอนไซม์อะไมเลส เมื่อจัดจำแนกแบคทีเรียแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16S rRNA พบว่ามีความเหมือน (homology) *Pediococcus pentosaceus* APa4, *Pediococcus pentosaceus* AIa1 และ *Enterococcus faecium* ARa1 เท่ากับ 98, 97 และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เมื่อนำสารสกัดเอทานอลจากพืชหัว 12 ชนิด คือ บัทรูท มันเทศสีส้ม หัวไชเท้า แครอท มันแกว มันเทศสีม่วงเปลือกแดง มันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มันขี้หนู มันเทศสีขาวเปลือกแดง แห้ว มันฝรั่ง และเผือก มาทดสอบการทนต่อการย่อยด้วยกรดที่พีเอช 1, 2 และ 3 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง และการย่อยด้วยเอนไซม์ α -amylase เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่ามีศักยภาพเป็นพรีไบโอติกที่ดี โดยสารสกัดจาก มันเทศสีขาวเปลือกแดง บัทรูท มันฝรั่ง และมันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง ซึ่งมีปริมาณองค์ประกอบของสารสกัดที่ไม่ถูกย่อยเหลืออยู่ 75.37, 84.25, 74.29 และ 88.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อีกทั้งสามารถส่งเสริมการเจริญแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* และ *Enterococcus faecium* โดยสามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ดีที่สุด สามารถส่งเสริมการเจริญได้ถึง 4.01, 3.56, 2.88 และ

2.85 log CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเลี้ยงในอาหารที่มีสารสกัดจาก บีทรูท มันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มันเทศสีม่วงเปลือกแดง และ มันฝรั่ง ตามลำดับ

นอกจากนี้ส่วนใส่ที่ได้จากการเลี้ยง *L. plantarum* ในอาหารที่มีสารสกัดทั้ง 4 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *Salmonella* sp. และ *E. coli* เมื่อศึกษาการเจริญร่วมกันระหว่าง *L. plantarum* กับแบคทีเรียก่อโรค *S. aureus*, *Salmonella* sp. และ *E. coli* ในอาหารที่มีสารสกัด บีทรูท มันเทศสีม่วงเปลือกเหลือง มันเทศสีม่วงเปลือกแดง และ มันฝรั่ง เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคได้

Thesis Title	Screening of Probiotics from Marine Fish and use of Root Crop Extracts as Prebiotics
Author	Miss Nirunya Buntin
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2006

ABSTRACT

One hundred and sixty isolates of lactic acid bacteria with inhibitory activity against pathogenic *Escherichia coli* were isolated from gastrointestinal tracts obtained from fish, shrimp and shellfish. One hundred and sixteen isolates were obtained from fish, twenty isolates from shrimp and twenty-four isolates from shellfish. Three strains were selected based on their high bile and acid tolerance. All the acid-tolerant strains showed inhibitory activity against human pathogens, including *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* sp. and *Listeria monocytogenes*. However, the antibacterial activities were lost after the culture supernatants were neutralized to pH 6.5-7.0 and treated with catalase. Nucleotide sequences of their 16s rRNA were *Pediococcus pentosaceus* APa4, *Pediococcus pentosaceus* AIa1 and *Enterococcus faecium* ARa1.

Investigation for prebiotic properties for the resistance to acid (pH 1, 2 and 3) and pancreatic α -amylase performed *in vitro* simulated human upper-gastrointestinal tract of the ethanolic extracts prepared from various root crops was performed. Four extracts (red-sweet potato, beetroot, potato and purple-sweet potato) were selected based on their resistant to acidic and enzymatic hydrolysis which 75.37, 84.25, 74.29 and 88.09 % of total carbohydrate remained, respectively. The effect of root crop extracts on the growth enhancement of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* and *Enterococcus faecium* under large intestine conditions, and *L. plantarum* showed the highest utilization both of extract.

Culture supernatant obtained from fermentation of all ethanolic extract by *L. plantarum* showed inhibitory activity against food-borne pathogens, such as *S. aureus*, *Salmonella* sp. and *E. coli*. *L. plantarum* were incubated simultaneously with pathogenic *E. coli*, *S. aureus* and *Salmonella* sp. The results showed that these *L. plantarum* inhibited the *in vitro* growth of *E. coli*, *S. aureus* and *Salmonella* sp. at 48 h.