

Pediococcus acidilactici CP7-3 และ *Weissella confusa* CP3-1 เป็นแบคทีเรียแลคติก ที่คัดแยกจากไส้กรอกเปรี้ยว และหม่ำ อาหารหมักพื้นเมืองของไทย งานวิจัยนี้ศึกษาถึงการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียโอซินในอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ Tryptic soy broth ที่เติม 3% yeast extract (TSBYE), MRS broth ไม่มีกลูโคส (MRSNG), MRS broth สูตรปกติ (MRS), และอาหารน้ำมะพร้าว (CWB) พบว่าสายพันธุ์ CP7-3 เจริญเร็วและเพิ่มจำนวนเซลล์มากกว่าสายพันธุ์ CP3-1 ในทุกอาหารเลี้ยงเชื้อและยังพบว่าอายุของแบคทีเรียแลคติกมีผลต่อการสร้างสารแบคทีเรียโอซินโดยวิเคราะห์จากผลการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ งานวิจัยนี้ใช้ *Bacillus cereus* TISTR 037 และ *Staphylococcus aureus* TISTR 029 เป็นแบคทีเรียทดสอบที่สำคัญที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร พบว่าช่วงการเจริญของแบคทีเรียแลคติกสูงสุดมีกิจกรรมการยับยั้งเชื้อทดสอบโดยคิดเป็นหน่วยการยับยั้ง bacteriocin unit (B.U.) ได้สูงสุดด้วยเช่นกัน และค่า B.U. ลดลงในช่วงท้ายของการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีน้ำตาลในส่วนประกอบ (TSBYE และ MRSNG) pH คงที่ (6.0) ในขณะที่แบคทีเรียแลคติกที่เลี้ยงในอาหาร MRS และ CWB ให้ค่าการยับยั้ง *B. cereus* และ *S. aureus* B.U. อยู่ในระดับสูง (3.6-4.6 B.U./ml) ซึ่งเป็นผลมาจากจำนวนเซลล์แบคทีเรียแลคติกที่มากกว่าและกรดแลคติกทำให้พีเอชต่ำลง โดยส่วนกรองใสจากสายพันธุ์ CP7-3 สามารถยับยั้งการเจริญ *B. cereus* และ *S. aureus* ได้ดี แต่ส่วนกรองใสจากสายพันธุ์ CP3-1 สามารถยับยั้งการเจริญ *B. cereus* ได้น้อย

สำหรับการทำให้บริสุทธิ์บางส่วนของสารแบคทีเรียโอซินโดยการแยกขนาดน้ำหนักโมเลกุลโดยใช้ Pellicore membrane สกัดโปรตีนด้วยตัวทำละลายคลอโรฟอร์ม และการตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียม ซัลเฟต พบว่า ช่วงน้ำหนักโมเลกุลของแบคทีเรียโอซิน มีช่วงการออกฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียเป้าหมายต่างกัน แบคทีเรียโอซินจาก CP7-3 พบกิจกรรมการยับยั้งในทุกช่วงน้ำหนักโมเลกุลและสามารถยับยั้งแบคทีเรียทดสอบได้สูงสุดที่ช่วงโมเลกุลเล็กกว่า 5 kDa แบคทีเรียโอซินจาก CP3-1 ยับยั้ง *B. cereus* ได้ดีที่ช่วงน้ำหนักโมเลกุลใหญ่กว่า 10 kDa และยับยั้ง *S. aureus* ช่วงน้ำหนักโมเลกุลเล็กกว่า 5 kDa เมื่อทำการหาองค์ประกอบของกรดอะมิโนแบคทีเรียโอซินจาก CP3-1 จัดอยู่ในกลุ่ม Class II bacteriocins: non-lantibiotic Bacteriocins (unmodified peptide) โดยพบว่าสายเปปไทด์ของแบคทีเรียโอซิน CP3-1 น้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 10 kDa ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่คาดว่าน่าจะเป็นกรดอะมิโนที่มีเฉพาะในแบคทีเรียโอซิน คือ aspartic acid (D), glutamic acid (E), lysine (K), threonine (T) และ valine (V) โดยลำดับกรดอะมิโนส่วนกรองใส CP3-1 10 kDa จะประกอบด้วยกรดอะมิโนด้วยกันหลายชนิด แต่กรดอะมิโนสำคัญที่พบมากในแบคทีเรียโอซิน CP3-1 คือ aspartic acid และ glutamic acid ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่พบได้น้อยในแบคทีเรียโอซินชนิดอื่นๆ แล้วยังพบว่ากรดอะมิโนในแบคทีเรียโอซินจาก CP3-1 ช่วงน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 5 kDa ประกอบด้วยกรดอะมิโน aspartic acid (D), glutamic acid (E), lysine (K), valine (V), leucine (L) และ isoleucine (I) โดยกรดอะมิโน aspartic acid (D) และ glutamic acid เป็นกรดอะมิโนที่พบเฉพาะในแบคทีเรียโอซิน CP3-1 ข้อมูลจากงานวิจัยนี้ช่วยระบุถึงคุณสมบัติระดับโมเลกุลบางส่วนของแบคทีเรียโอซินที่ค้นพบใหม่ที่สร้างโดย *W. confusa* CP3-1 ซึ่งอาจจะสามารถนำมาใช้ประโยชน์เป็นวัตถุดิบเสียทางชีวภาพในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

Pediococcus acidilactici CP7-3 and *Weissella confusa* CP3-1 were lactic acid bacteria (LAB) isolated from Thai traditional fermented sausage and previously reported to have bacteriocin-like activity. This research aimed to study the growth phase of those two LAB in batch culture and determined their bacteriocin activity in each phase of growth. Four culture media were compared *i.e.* Tryptic soy broth plus 3% yeast extract (TSBYE), MRS broth normal formula, MRS broth without glucose (MRSNG) and coconut water broth (CWM). The results showed that the strain CP7-3 had higher growth than the strain CP3-1 in all media. Furthermore the bacteriocin activity against indicator microorganism (*Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus*) seemed to relate with the growth phase. and a further decreased at the end of growth in the media without glucose (TSBYE and MRS-NG) where the pH remained at 6.0. the inhibitory activity also decreased at the end of the growth. Both Bacteriocin CP3-1 and CP7-3 produced by LAB in MRS broth and CWM. Although the BU_{max} of the two LAB strains in the media with glucose (MRS and CWM) were high at 3.6-4.6 B.U./ml, this due to the synergistic role of lactic acid produced and the drop of pH, the high number of cells and bacteriocin production all together. The filtrate from CP7-3 showed inhibitory activity against both of *B. cereus* and *S. aureus* but the filtrate from CP3-1 showed low inhibition to *B. cereus*. Thereafter, filtrate from CP3-1 and CP7-3 were partially into 3 different range Pellicorn membrane and were partially purified by chloroform extraction and ammonium sulphate precipitation. The results showed that inhibitory activity of CP7-3 appeared at the range of ≤ 5 kDa. In contrast the activity of CP3-1 at < 5 kDa. The amino acid components of peptides from CP3-1 were analyzed. There were aspartic acid, glutamic acid, lysine, threonine and valine, however aspartic acid and glutamic acid seem to involve in the bacteriocin. The smaller size of peptide from CP3-1 (smaller than 5 kDa) composed of aspartic acid, glutamic acid, lysine, valine, leucine and isoleucine. This research had suggested the potential of novel bacteriocin produced by *W. confusa* CP3-1 and its possible amino acid components which may be useful for being bio-preservative in the future.