จากการคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) จากผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง 21 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้ 529 ไอโซเลท พบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 121 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* TISTR 458, *P. acidilactici* TISTR 425, *P. acidilactici* TISTR 783, *P. pentosaceus* TISTR 955, *P. pentosaceus* TISTR 423, *B. megaterium, S. aureus* TISTR 746 และ *B. cereus*ในอาหารแข็งได้โดยการทดสอบด้วยวิธี soft agar และเมื่อนำไปทดสอบการสร้างสารยับยั้งการเจริญในอาหารเหลวโดยวิธี paper disc และทดสอบคุณลักษณะแบคเทอริโอซินพบว่า มีแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 11 ไอโซเลท (KKU 115, KKU 170, KKU 171, KKU 197, KKU 198, KKU 369, KKU 492, KKU 557, KKU 560, KKU 637 และ KKU 639) สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญได้ในอาหารเหลว สารยับยั้งการเจริญสามารถทนความร้อนได้ดีและมีความไวต่อเอนไซม์โปรติเนส เค (Proteinase K) ซึ่งสารที่ผลิตขึ้นน่าจะเป็นโปรตีนหรือแบคเทอริโอซิน เนื่องจากเมื่อทดสอบด้วยเอนไซม์ดังกล่าวทำให้ค่ากิจกรรมแบคเทอริโอซินลดลงเป็น 0 AU ml^{-1} ในขณะเดียวกันสารดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบได้หลายชนิดโดยเฉพาะที่ผลิตโดยสายพันธุ์ KKU 170 และ KKU 197 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ S*taphylococcus aureus* TISTR 746 และ *Listeria monocytogenes* หลังจากนั้นนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 11 ไอโซเลท ไประบุสายพันธ์พบว่าการระบุโดยวิธีทางสัณฐานวิทยาและสรีระวิทยา และทางอณูชีววิทยาให้ผลเป็น *Pediococcus* spp. และ *P. acidilactici* ทั้ง 11 ไอโซเลท ตามลำดับ

เมื่อนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ให้ค่ากิจกรรมแบคเทอริโอซินสูงสุด (1600 AU ml^{-1}) ซึ่งได้แก่ *P. acidilactici* KKU 170 และ *P. acidilactici* KKU 197 มาศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินในระดับห้องปฏิบัติการโดยศึกษาถึงชนิดอาหารเพาะเลี้ยง (MRS และ M17), ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (0.2, 2.0, 5.0 และ 10.0 เปอร์เซ็นต์), พีเอชเริ่มต้น (3.2, 4.2, 5.2 และ 6.5), อุณหภูมิ (30, 37, 45 และ 50

องศาเซลเซียส) และอัตราการกวน (0 และ 100 รอบต่อนาที) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคเทอริโอซินโดยให้ค่าแบคเทอริโอซินสูงสุด (1600 AU ml^{-1}) คือ อาหาร MRS, พีเอชเริ่มต้นที่ 6.5, อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส, ปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.2 หรือ 2.0 เปอร์เซ็นต์ และ อัตราการกวนที่ 0 รอบต่อนาที ในขณะที่ค่ากิจกรรมแบคเทอริโอซินสูงสุดของ *P. acidilactici* KKU 197 จะอยู่ในช่วงปลาย log phase และ *P. acidilactici* KKU 170 สูงสุดในช่วงต้น stationary phase ซึ่งการผลิตแบคเทอริโอซินมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญของเซลล์

การทำให้แบคเทอริโอซินบริสุทธิ์บางส่วน (Partial purification) โดยการตกตะกอนที่เปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวของแอมโมเนียมซัลเฟต 20-40, 40-60, 60-80 และ 0-80 พบว่าแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดย KKU 170 ให้ค่ากิจกรรมแบคเทอริโอซินเท่ากับ 200, 800, 400 และ 6400 AU ml^{-1} ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.745, 0.720, 2.700 และ 5.044 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 268.4, 1111.1, 148.1 และ 1268.8 AU mg^{-1} ตามลำดับ ส่วนแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดย KKU 197 ให้ค่ากิจกรรมแบคเทอริโอซินเท่ากับ 400, 800, 400 และ 6400 AU ml^{-1} ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.683, 0.340, 2.893 และ 4.740 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่ากิจกรรมจำเพาะเท่ากับ 237.6, 2352.9, 138.2 และ 1350.2 AU mg^{-1} ตามลำดับ เมื่อนำแบคเทอริโอซินจากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตมาศึกษาความเสถียรพบว่า ที่เปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัว 20-40, 40-60, 60-80 และ 0-80 แบคเทอริโอซิน (ที่ผลิตโดย KKU 170 และ KKU 197) สามารถทนต่อพีเอช 5.0, 5.5 และ 6.0 ได้ และทนต่ออุณหภูมิ 60 และ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ตามลำดับ ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวของแอมโมเนียมซัลเฟต 0-80 สามารถทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

Bacteriocin producing thermotolerant (45 °C) lactic acid bacteria were screened from 21 samples of local fermented foods. Total of 529 isolates of lactic acid bacteria were obtained. It was found that only 121 isolates could be able to inhibit the growth of *S. thermophilus* TISTR 458, *P. acidilactici* TISTR 425, *P. acidilactici* TISTR 783, *P. pentosaceus* TISTR 955, *P. pentosaceus* TISTR 423, *B. megaterium, S. aureus* TISTR 746 และ *B. cereus* by testing with the soft agar method. When these 121 isolates were examined for antibacterial agent production in liquid medium by paper disc method and testing for the bacteriocin characteristic, the results exhibited that only 11 isolates, which were KKU 115, KKU 170, KKU 171, KKU 197, KKU 198, KKU 369, KKU 492, KKU 557, KKU 560, KKU 637 and KKU 639, showed the positive results. The produced antibacterial agents could be able to resist to heat and sensitive to proteinase K. These antibacterial agents, thus, could be a protein or bacteriocin. This was because the antibacterial activity was reduced to 0 AU ml^{-1}. These antibacterial agents could be able to inhibit growths of many bacterial strains, especially those produced by KKU 170 and KKU 197 could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* TISTR 746 and *Listeria monocytogenes*. These 11 isolates were identified by biochemical test and molecular biological techniques as genus of *Pediococcus* spp. and *P. acidilactici*, respectively.

Factors effecting the bacteriocin production by *P. acidilactici* KKU 170 and KKU 197, which were media (MRS and M17), glucose concentration (0.2 %, 2.0 %, 5.0 % and 10.0 %), initial pH (3.2, 4.2, 5.2 and 6.5), temperature (30 °C, 37 °C, 45 °C and 50 °C) and agitation speed (0 and 100 rpm), were studied. The optimal initial pH and temperature for bacteriocin production were 6.5 and 45 °C. *P. acidilactici* KKU 170 and KKU 197 displayed the highest bacteriocin activity when growing in MRS medium which contained glucose 0.2 % or 2.0 % as a carbon source,

compared to M17 medium and agitation speed were 0 rpm. The maximum bacteriocin activity of 1600 AU ml^{-1} was obtained at the end of exponential phase and at the primary of stationary phase of growth for *P. acidiactici* KKU 197 and *P. acidilactici* KKU 170, respectively, and displayed a primary metabolite production.

The partial purification of bacteriocin by different percentages of ammonium sulfate saturations, which were 20-40 %, 40-60 %, 60-80 % and 0-80 %, showed that the bacteriocin activity, protein concentration and specific activity of the bacteriocin produced by KKU 170 were 200, 800, 400 and 6400 AU ml^{-1}, 0.745, 0.720, 2.700 and 5.044 mg ml^{-1} and 268.4, 1111.1, 148.1 and 1268.8 AU mg^{-1}, respectively. Where as those produced by KKU 197 were 400, 800, 400 and 6400 AU ml^{-1}, 1.683, 0.340, 2.893 and 4.740 mg ml^{-1} and 237.6, 2352.9, 138.2 and 1350.2 AU mg^{-1}, respectively. The partially purified bacteriocins produced by KKU 170 and KKU 197 were heat-stable (60 °C and 100 °C for 30 and 60 min) and active at pH 5.0-6.0. More over, the partially purified bacteriocin precipitated at 0-80 % was heat-stable even at autoclaving temperature (121 °C for 10 min).