บทคัดย่อ

T 160636

รหัสโครงการ : MRG4680022

ชื่อโครงการ : การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติคที่ผลิตสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราและการแสดงออกของยีนไคติเนสในแบคทีเรียกรดแลคติคที่คัดเลือกได้

ชื่อนักวิจัย : นายมณฑล เลิศคณาวนิชกุล
สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช

E-mail address : lmonthon@wu.ac.th, monthon_55@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : กรกฎาคม 2546 – กันยายน 2547

สามารถคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติคจำนวน 40 isolates จากอาหารหมักชนิดต่างๆ โดยการใช้วิธี Dual-culture agar plate เป็นวิธีทดสอบเบื้องต้นในการคัดเลือกคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ปรากฏว่าเชื้อทุก isolates สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylocossus aureus, Bacillus subtilis, Micrococcus luteus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* แต่พบว่ามีเฉพาะส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติคหมายเลข 14 เท่านั้นที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราด้วยวิธี agar well diffusion ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวจะตรวจพบได้สูงสุดในช่วงต้นของ stationary phase และลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าคุณสมบัติของสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรามีความทนทานต่ออุณหภูมิสูงถึง 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และมี pH อยู่ในช่วง 2.5-4.0 แต่จะสูญเสียคุณสมบัติไปเมื่อปรับ pH ให้สูงขึ้น

เมื่อนำพลาสมิดลูกผสมจีนไคติเนสจากเชื้อ *Bacillus circulans* No.4.1 เข้าสู่แบคทีเรียกรดแลคติคโดยวิธี electroporation พบว่าส่วนของจีนไคติเนสถูกตัดย่อยออกไปทำให้ไม่มีการแสดงออกของจีนไคติเนสในแบคทีเรียกรดแลคติคและไม่สามารถศึกษาฤทธิ์ร่วมกันกับเอนไซม์ไคติเนสในการยับยั้งเชื้อรา *C. albicans* อย่างไรก็ตามพบว่าเอนไซม์ไคติเนสมีฤทธิ์ร่วมกับยาแอมโฟเทอริซิน บี ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. albicans*

Abstract

TE 160636

Project Code : MRG4680022

Project Title : Isolation and Selection of Antifungal Producing Lactic Acid Bacteria and Expression of Chitinase-Encoding Gene in Selected Isolate

Investigator : Mr. Monthon Lertcanawanichakul
Institute of Allied Health Sciences and Public Health,
Walailak University, Nakhon Si Thammarat

E-mail address : lmonthon@wu.ac.th, monthon_55@yahoo.com

Project Period : July 2003 – September 2004

The forty isolates of lactic acid bacteria (LAB) were obtained from various fermented foods. Dual-culture agar plate assay used as preliminary screening of antifungal activity spectrum. LAB were isolated by selective medium, MRS. Most of the isolates showed inhibition against *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Candida albicans*. Only isolate No. 14's liquid culture showed the antifungal activity by means of agar well diffusion assay. Its antifungal activity with *C. albicans* maximized early in the stationary growth phase, but with a rapid decline after 48 hour. The activity was stable during heat treatment and was retained even after autoclaving at 121°C for 15 minute. Maximum activity was observed at pH valued of between 2.5-4.0, and was lost at higher pH values.

To investigate the expression of chitinase gene in selected LAB, cloned chitinase gene from *Bacilius circulans* No.4.1 was introduced into selected LAB by electroporation. It was found that the chitinase gene portion was structurally instable and did not express in selected LAB. The synergistically effect, filtrated from selected LAB and chitinase, on *C. albicans* was not clearly observed. However, a little more activity was observed against *C. albicans* when using chitinase coupled with Amphotericin B.