

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์หลักในการคัดเลือกเชื้อที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกแบคทีเรีย จากแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เศรษฐกิจและถั่วหมักพื้นบ้าน ผลการคัดแยกแบคทีเรียจากทั้งหมด 113 ตัวอย่าง พบว่าสามารถแยกแบคทีเรียได้รวม 775 ไอโซเลท เป็นแกรมบวก 595 และแกรมลบ 180 ไอโซเลท คุณสมบัติของแบคทีเรียแกรมบวกต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรค *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* และ *Aeromonas hydrophila* ความสามารถในการทนต่อสภาพความเป็นกรดสูง (พีเอช 3.0), เกลื่อน้ำดี 0.3 เปอร์เซ็นต์ และอุณหภูมิสูง พบว่ามีแบคทีเรียที่ผ่านการทดสอบที่ดีได้ 3 ไอโซเลท คือ P8-3.1, T-26.7 และ T-29.11 เมื่อนำเชื้อดังกล่าวไปจัดจำแนกสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลในการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16s rRNA กับฐานข้อมูลลำดับเบสใน GenBank พบว่าแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท คือ *Bacillus subtilis* สภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดการเข้าสปอร์ของเชื้อ P8-3.1 พบว่าวิธีการให้ความร้อนที่ 65 เซลเซียส 15 นาที แล้วแช่น้ำแข็ง 15 นาที สลับกันนาน 60 นาที และแบคทีเรียอายุ 48 – 72 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นให้เกิดการเข้าสปอร์มากที่สุด การเก็บรักษาเชื้อ P8-3.1 โดยกระตุ้นให้เกิดการเข้าสปอร์และเก็บรักษาในน้ำกลั่นที่มีกากน้ำตาลผสมอยู่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ตั้งแต่วันที่ 7, 15 และ 23 ของการเก็บรักษา และเมื่อรักษานานถึง 90 วัน พบว่าในกลุ่มที่กระตุ้นให้มีการเข้าสปอร์จะมีอัตราการรอดชีวิตมากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างชัดเจน การเก็บรักษาเชื้อ T-26.7 และ T-29.11 ในรูปแบบสปอร์ผสมในผงถั่วเหลือง สามารถรอดชีวิตได้นานขึ้นและมีอัตราการตายลดลงไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ดี และยังสามารถพัฒนา
รูปแบบของผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกแบบน้ำและผงที่มีอายุการเก็บรักษาได้นาน ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์
โปรไบโอติกดังกล่าว คาดว่าจะเหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์
ของประเทศไทยได้

ABSTRACT

203862

Recently, probiotic bacteria are widely used as substitute for antibiotics in the animal industry. This study was to select bacteria from animal gastrointestinal tract and traditional fermented soybeans as potential use for new candidate probiotic. A total of 775 isolates are from 113 samples distributed to 595 gram positive and 180 gram negative. Abilities of 595 isolates are tested against pathogenic such *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *Aeromonas hydrophila*, and tolerance to low pH, bile salt, and high temperature. Bacterial strains of P8-3.1, T26.7 and T29.11 showed the good properties of probiotic. Identification of these isolates by compare each of 16s rRNA in GenBank, and indicated that all of isolation was *Bacillus subtilis*. Optimize conditions of spore forming in P8-3.1 by heat shock at 65 C⁰ for 15 minutes and then freeze under 0 C⁰ for 15 minutes continually two times, and culturing time between 48 – 72 h of bacteria are good conditions to stimulate the spore forming. Spore forming of P8-3.1 in molasses, survival rate was higher (P<0.05) as compared with control group in 7, 15 and 23 days of storage time, and it could be increase the keeping time up to 90 days. Survival rate of spore forming T-26.7 and T-29.11 in soybean powder had higher than control group.

Screening and form development of probiotic bacteria candidate in this study could be use in animal industry.