วรายุทธ สุระนรากุล. 2549. **คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่สร้างโดยแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหารหมัก.** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น. [ISBN 974-626-707-8]

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : อ.ดร. สัมภาษณ์ คุณสุข, รศ. ดร. พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ

บทคัดย่อ

จากการคัดเลือกเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างแบคเทอริโอซินได้จากตัวอย่างแหนมโดยวิธี swab-paper disc พบว่ามีเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียจำนวน 49 ไอโซเลต ที่สามารถยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 ได้ เมื่อนำเชื้อทั้ง 49 ไอโซเลต ไปทำการสกัด plasmid พบว่ามีเพียงเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 เท่านั้นที่มี plasmid ขนาด 2.5 kb โดยเชื้อดังกล่าวถูกตรวจสอบว่าเป็นเชื้อ *Lactococcus* เมื่อทำการศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบของแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 โดยวิธี swab- paper disc พบว่า แบคเทอริโอซินสามารถยับยั้งได้เฉพาะเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น ซึ่งได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Streptococcus pneumoniae* DMS 5851, *Streptococcus pyogenes* ATCC 12384, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 และ *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473 จากศึกษากลไกการทำงานของแบคเทอริโอซินโดยการนำเซลล์ของ *L. mesenteroides* TISTR 473 ที่ถูกยับยั้งการเจริญโดยแบคเทอริโอซินมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนชนิดส่องกราดพบว่าเซลล์ดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อทำการศึกษาคุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 พบว่าแบคเทอริโอซินดังกล่าวเป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10 kDa สามารถทนความร้อนได้ที่อุณหภูมิ 121 ^{0}C เป็นเวลาอย่างน้อย 15 นาที ทำงานได้ในช่วง pH ตั้งแต่ 2 ถึง 9 และทนต่อสารเคมีชนิดต่างๆ ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml ได้ เช่น toluene, acetone, acetic acid, 95% ethanol, isopropanol, chloroform, EDTA, SDS เชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 สามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้สูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ 1,280 AU/ml หลังจากที่ทำการบ่มเชื้อดังกล่าวเป็นเวลา 7 ถึง 8 ชั่วโมง จากการศึกษาความสามารถของเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 ในการเจริญในสภาพแวดล้อมคล้ายกรดในกระเพาะอาหารและในสารละลายน้ำดีพบว่าเชื้อดังกล่าวไม่สามารถเจริญได้ในสารละลายกรด และเจริญได้เพียงเล็กน้อยในสารละลายน้ำดี เมื่อตรวจหาตำแหน่งยีนสำหรับแบคเทอริโอซินของเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียรหัส NO5 พบว่ายีนดังกล่าวเป็นยีนที่น่าจะอยู่บน plasmid

Warayut Suranarakhun. 2006. **Characterization of a Bacteriocin Produced by Lactic Acid Bacteria Isolated from Fermented Foods.** Master of Science Thesis in Biology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 974-626-707-8]

Thesis Advisors : Dr. Sumpars Khunsook, Assoc. Prof. Dr. Pongsak Rattanachaikunsopon

ABSTRACT

Lactic acid bacteria (LAB) isolated from Nham were screened for bacteriocin production by swab-paper disc method. Forty nine isolates of LAB were found to be able to inhibit *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 473. Of all selected bacterial isolates, only one isolate, designated as NO5, harbored a plasmid of 2.5 kb in size. The bacterial isolate was identified as *Lactococcus*. LAB NO5 was tested for its inhibitory activity against a variety of indicator organism. It was found that the bacterial isolate inhibited only gram positive bacteria including *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Bacillus subtilis* TISTR 008, *Streptococcus pneumoniae* DMS 5851, *Streptococcus pyogenes* ATCC 12384, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 and *L. mesenteroides* TISTR 473. By using scanning electron microscopy, no change was observed in cells of *L. mesenteroides* TISTR 473 treated with bacteriocin of LAB NO5. The bacteriocin was shown to be a protein with a molecular weight of approximately 10 kDa. It was resistant to heat treatment at 121 ^{0}C for at least 15 min and to various chemicals at a concentration of 1 mg/ml such as toluene, acetone, acetic acid, 95% ethanol, isopropanol, chloroform, EDTA and SDS. Its activity was stable over a wide range of pH (from 2 to 9). The highest bacteriocin activity 1,280 AU/ml, was detected after the culture of LAB NO5 was grown for 7 and 8 h. LAB NO5 was shown not to grow in artificial gastric juice, but its growth was detected at low level in MRS containing bile acid. The localization of bacteriocin gene was also studied. It was found that the gene was likely to be located on the plasmid.