

ปรีชา ภูมิพันธ์ผล 2550: การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกที่สร้างแบคทีเรียโอซินจากระบบ
ทางเดินอาหารของปลาช่อน ปลาหมอสี ปลาสร้อย ปลาหมอสี ปลาหมอสี ปลาหมอสี (ผลิตภัณฑ์ประมง)
สาขาผลิตภัณฑ์ประมง ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง ประสานกรรมการที่ปรึกษา:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงษ์เทพ วิไลพันธ์, วท.ค. 100 หน้า

การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกที่สามารถสร้างแบคทีเรียโอซินจากระบบทางเดินอาหารของ
ปลาช่อน พบว่าแบคทีเรียกรดแลกติกเพียง 2 สายพันธุ์ จากจำนวน 102 สายพันธุ์ สามารถสร้างสาร
ยับยั้งจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ได้ จึงคัดเลือกสายพันธุ์ MGM30-8.22 ซึ่งคัดแยกได้จาก
ปลาทองโคเม็ต (*Carassius auratus* สายพันธุ์ comet) และมีกิจกรรมของสารดังกล่าวสูงสุดมาจัดจำแนก
ชนิดด้วยชุดทดสอบ API 20 Strep และการเปรียบเทียบลำดับเบสของ 16S rDNA รวมทั้งศึกษา
คุณสมบัติต่าง ๆ ของสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น พบว่าสายพันธุ์ MGM30-8.22 จัดเป็น
Enterococcus raffinosus โดยสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างขึ้นมีคุณสมบัติเป็นโปรตีนซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะ
ที่สำคัญของแบคทีเรียโอซิน นอกจากนี้สารยับยั้งจุลินทรีย์ดังกล่าวยังมีคุณสมบัติทนต่อความร้อน คงตัว
ได้ดีภายใต้สภาวะค่าความเป็นกรดต่างระหว่าง 2-11 มีรูปแบบกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญของ
Enterococcus faecium JCM 5804 แบบฆ่าทำลายเซลล์ (bactericidal mode of action) รวมทั้งมีการสร้าง
แบคทีเรียโอซิน ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในลักษณะที่มี
ความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญของเซลล์ (primary metabolite production) โดยมีปริมาณ
แบคทีเรียโอซินในน้ำเลี้ยงเชื้อสูงสุดในช่วงปลายของการเจริญระยะ log หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 14
ชั่วโมง ส่วนการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นโปรไบโอติกด้านการทนต่อสภาวะภายในระบบ
ทางเดินอาหารของปลา พบว่า *E. raffinosus* MGM30-8.22 สามารถทนต่อโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น
ระหว่าง 1-7 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทนกลีโกลีซีนความเข้มข้นระหว่าง 0.1-0.2 เปอร์เซ็นต์
(น้ำหนักต่อปริมาตร) ทนคือน้ำดิสทิลลอสจากปลาความเข้มข้นระหว่าง 10, 30 และ 50 เปอร์เซ็นต์
(ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถรอดชีวิตหรือเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ที่ค่าความเป็นกรดต่างระหว่าง 3-11
ในช่วงระยะเวลา 6 ชั่วโมง และสามารถเจริญทั้งภายใต้สภาวะมีออกซิเจนและปราศจากออกซิเจนได้
นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อ nalidixic acid, oxolinic acid และ sulphamethoxazole ได้ จากคุณสมบัติ
ข้างต้นแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการนำ *E. raffinosus* MGM30-8.22 ไปศึกษาวิจัยและพัฒนา
เพื่อประยุกต์ใช้เป็นโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหรือปลาช่อน

ปรีชา ภูมิพันธ์ผล
ลายมือชื่อนิติ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์
ลายมือชื่อประธานกรรมการ

24 / 6 / 50

Preecha Poompuenpon 2007: Isolation of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria from Gastrointestinal Tract of Ornamental Fish. Master of Science (Fishery Products), Major Field: Fishery Products, Department of Fishery Products. Thesis Advisor: Assistant Professor Pongtep Wilaipun, Ph.D. 100 pages.

One hundred and two strains of lactic acid bacteria (LAB) were isolated from various kinds of ornamental fish gastrointestinal tract and only two LAB strains produced antimicrobial substance in MRS broth. Strain MGM30-8.22, isolated from goldfish (*Carassius auratus*, comet), with the highest antimicrobial activity against indicator bacteria was selected for further studies. According to API 20 Strep and homology of 16S rDNA base sequences results, strain MGM30-8.22 was identified to be *Enterococcus raffinosus*. The antimicrobial substance produced by *E. raffinosus* MGM30-8.22 exhibited a proteinaceous in nature, which is the most important property of bacteriocin. Moreover, *E. raffinosus* MGM30-8.22 produced heat and pH tolerant bacteriocin with bactericidal mode of action to *Enterococcus faecium* JCM 5804. Bacteriocin production of *E. raffinosus* MGM30-8.22 in MRS broth reached the maximum level at the end of log phase after 14 hr of incubation which indicated a primary metabolite production. Preliminary probiotic properties on toleration in fish gastrointestinal tract of *E. raffinosus* MGM30-8.22 were studied. It could grow at 1-7% (w/v) NaCl, 0.1-0.2% (w/v) ox-bile salt, 10-50% (v/v) fresh fish bile, anaerobic condition as well as survive or grow at pH 3 to 11 after incubation for 6 hr. Moreover, it resisted to nalidixic acid, oxolinic acid and sulphamethoxazole. Consequently, these indicated that *E. raffinosus* MGM30-8.22 had a potential for research and probiotic application in aquaculture or ornamental fish culture.

Preecha Poompuenpon

* Student's signature

W. Pongtep.

Thesis Advisor's signature

24 / 4 / 07