

250198

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



250198

รายงานการวิจัย

ชื่อโครงการภาษาไทย: การผลิตแบคทีริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อใช้  
เป็นสารถนอมอาหารชีวภาพ

ชื่อโครงการภาษาอังกฤษ: Production of bacteriocins from lactic acid bacteria  
for use as food biopreservatives

ชื่อผู้วิจัย: นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ หัวหน้าโครงการวิจัย

ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ

พ. ศ. 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



## รายงานการวิจัย

**ชื่อโครงการภาษาไทย:** การผลิตแบคทีริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อใช้  
เป็นสารถนอมอาหารชีวภาพ

**ชื่อโครงการภาษาอังกฤษ:** Production of bacteriocins from lactic acid bacteria  
for use as food biopreservatives

**ชื่อผู้วิจัย:** นางสาวสุรีย์ นานาสมบัติ หัวหน้าโครงการวิจัย



ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ

พ. ศ. 2554

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการวิจัยภาษาไทย: การผลิตแบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อใช้เป็นสารถนอม  
อาหารชีวภาพ

ชื่อโครงการวิจัยภาษาอังกฤษ: Production of bacteriocins from lactic acid bacteria for use as food  
biopreservatives

แหล่งเงิน เงินรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 152,210 บาท

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง กันยายน พ.ศ. 2554

หัวหน้าโครงการวิจัย: รศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ

หน่วยงานต้นสังกัด: สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ  
ทหารลาดกระบัง อีเมลล์: knsuree@kmitl.ac.th

คำสำคัญ (Keywords): bacteriocins, lactic acid bacteria, *Listeria monocytogenes*, biopreservatives,  
chilled ground pork

บทคัดย่อ

250198

ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียโอซินของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* LS0602 และเชื้อ *Lactobacillus brevis* LT0904 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* พบว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ (25-42 องศาเซลเซียส) และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชต่างกัน (พีเอช 4-8) ไม่มีผลทำให้กิจกรรมของแบคทีเรียโอซินแตกต่างกัน (12,800 AUต่อมิลลิตรเท่ากัน) การเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคส (30-40 กรัมต่อลิตร) และทรีปโตน (10 กรัมต่อลิตร) ในอาหาร MRS สูตรปกติช่วยกระตุ้นการผลิตแบคทีเรียโอซิน นอกจากนี้การเติม  $K_2HPO_4$  ทำให้เชื้อ *L. plantarum* LS0602 มีกิจกรรมสูงถึง 25,000 AUต่อมิลลิตรเช่นเดียวกับการเพิ่มความเข้มข้นของยีสต์สกัดเป็น 20 กรัมต่อลิตร และ  $K_2HPO_4$  ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตรเพื่อผลิตแบคทีเรียโอซินจากเชื้อ *L. brevis* LT0904 ทั้งนี้แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *L. brevis* LT0904 จะมีกิจกรรมสูงเมื่อเติม  $KH_2PO_4$  ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตรแทน  $K_2HPO_4$  ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตรในสูตรอาหาร MRS ปกติ จากนั้นนำส่วนใสที่ปราศจากเซลล์มาผ่านขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ด้วยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต การทำไดอะไลซิส และการตกตะกอนด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติกและนำมาศึกษาความคงตัวของอุณหภูมิ พีเอช และเอนไซม์ผลปรากฏว่าแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *L. plantarum* LS0602 มีความคงตัวต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูงสุด 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และส่วนแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *L. brevis* LT0904 ไม่สูญเสียกิจกรรมการยับยั้งเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงสุด 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แบคทีเรียโอซินจากเชื้อทั้งสองชนิดมีความคงตัวในสภาพที่มี pH 7 และในสภาพที่มีเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ เช่น  $\alpha$ -amylase, lipase, papain, pepsin และ trypsin trypsin นอกจากนี้แบคทีเรีย

ไอซินจากเชื้อทั้งสองยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ในอาหารเหลวได้จึงได้ทดลองใช้แบคทีเรียไอซินที่ผลิตจากเชื้อทั้งสองในการควบคุมการเจริญของ *L. monocytogenes* ในหมูบดแช่เย็นและในแฮม พบว่าการเติมแบคทีเรียไอซิน (ร้อยละ 4) ที่ผลิตจาก *L. plantarum* LS0602 ให้ผลดีกว่าการเติมแบคทีเรียไอซินที่ผลิตจาก *L. brevis* LT0904 ในการลดจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและจำนวนเชื้อ *L. monocytogenes* ในหมูบดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และได้ศึกษาผลของแบคทีเรียไอซิน (ร้อยละ 4) ร่วมกับกลูตาธีโอนที่เรียกกรดแลคติกในการควบคุมเชื้อ *L. monocytogenes* ในระหว่างการหมักแฮมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าการเติมแบคทีเรียไอซินที่ผลิตจาก *L. plantarum* LS0602 (ร้อยละ 4) ร่วมกับกลูตาธีโอน *L. plantarum* LS0602 ในแฮมสามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ได้ถึง 1.5 log cycle เมื่อหมักครบ 3 วัน

The optimum temperature, pH and medium components for bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* LS0602 and *Lactobacillus brevis* LT0904 to inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* were studied. No significant differences in bacteriocin activity were observed when both strains were cultured in MRS broth at 25-42 °C and pH 4-8 (12,800AU/ml). High concentration of glucose (30-40 g/l) and tryptone (10g/l) in MRS broth stimulated their bacteriocin production. Maximum bacteriocin activity by *L. plantarum* LS0602 (25,600 AU/ml) was recorded in MRS broth with 5g/l  $K_2HPO_4$ , while 20g/l yeast extract and 20g/l  $K_2HPO_4$  in MRS broth resulted in the same bacteriocin activity by *L. brevis* LT0904. In addition, bacteriocin production by *L. brevis* LT0904 was stimulated in MRS broth with 2g/l  $K_2HPO_4$  replaced by 2g/l  $KH_2PO_4$ . The bacteriocins in cell-free supernatant were partial purified by ammonium sulfate precipitation, dialysis and trichloroacetic acid precipitation, and subsequently tested for their stability to heat, pH and enzymes. The bacteriocins from *L. plantarum* LS0602 and *L. brevis* LT0904 were not inactivated after treatment at highest temperature of 85°C for 30 min and 72°C for 30 min, respectively. The bacteriocins from both strains maintained full stability at pH 7 and after treatments with  $\alpha$ -amylase, lipase, papain, pepsin and trypsin. They also exhibited strong inhibitory activity against *Listeria monocytogenes* in MRS broth. Then, these bacteriocins were used to control the growth of *L. monocytogenes* in ground pork during storage at 4°C and in nham during fermentation at 30°C. The bacteriocins (4%) produced by *L. plantarum* LS0602 were more effective to reduce the total bacterial counts and *L. monocytogenes* counts in chilled ground pork than those produced by *L. brevis* LT0904, whereas the bacteriocins (4%) in combination with *L. plantarum* LS0602 could reduce the number of *L. monocytogenes* in nham for 1.5 log cycle after 3-day fermentation.

## สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง/การทบทวนวรรณกรรม	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย	8
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	18
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ	35
บรรณานุกรม	37