

การแยกเชื้อ LAB จากอาหารหมักชนิดต่าง ๆ จำนวน 50 ตัวอย่าง พบว่าได้เชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์อะมิเลส ทั้งหมด 131 ไอโซเลท โดยมีแบคทีเรียรูปร่างท่อน 110 ไอโซเลท รูปไข่ 7 ไอโซเลท และทรงกลม 14 ไอโซเลท เมื่อนำ LAB ที่แยกได้มาทดสอบความสามารถในการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* TISTR 118 โดยวิธี agar spot assay พบว่า LAB ที่แยกได้ 73 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ จากนั้นนำไอโซเลทดังกล่าวไปทดสอบยืนยันโดยวิธี agar well diffusion assay พบว่า 21 ไอโซเลท สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้ โดยมี 8 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุด เมื่อนำ culture supernants ที่ได้จาก 8 ไอโซเลทนี้ไป treat ด้วยเอนไซม์ย่อยโปรตีน พบว่ายับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้น้อยลง แสดงว่าสารออกฤทธิ์เหล่านี้เป็นโปรตีน และน่าจะเป็นแบคทีริโอซิน และจากการศึกษาพบว่าเชื้อรหัส FFL17-2 (แยกได้จากปลาต้มปัก กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรเชียงใหม่ จังหวัดลพบุรี) มีความคงตัวในการผลิตแบคทีริโอซินได้ดีกว่าไอโซเลทอื่น ๆ เมื่อนำมาจัดจำแนกโดยใช้ API 20 Strep (BioMerieux) พบว่าเป็นเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* และการทดสอบยืนยันโดยใช้เทคนิคทางพันธุศาสตร์ระดับโมเลกุล โดยอาศัย Amplified fragment length polymorphism และ Restriction fragment length polymorphism ของชิ้นส่วนของยีน *gadB* ซึ่งเป็นยีนสำหรับเอนไซม์ glutamate decarboxylase พบว่าให้ผลสอดคล้องกัน

การศึกษาศสมบัติเบื้องต้นของแบคทีริโอซินที่ผลิตได้จากเชื้อ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* FFL17-2 พบว่าทนความร้อน 100°C ได้นาน 10 นาที มีความคงตัวดีในช่วง pH 4-7 มี antibacterial spectrum กว้างขวาง เพราะนอกจากจะยับยั้ง *S. aureus* ซึ่งเป็นเชื้อโรคอาหารเป็นพิษได้ดีแล้ว ยังสามารถยับยั้ง *Lactobacillus sakei*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus salivarius*, *Lactococcus cremoris*, *Bacillus cereus*, *B. circulans*, *B. coagulans* และ *Listeria monocytogenes* ได้อีกด้วย และเมื่อเปรียบเทียบ antibacterial activity กับ นินซิน พบว่าสามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *L. sakei* ได้ประมาณ 75% ของ commercial nisin ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

One hundred and thirty-one isolates of lactic acid bacteria (LAB) were isolated from 50 fermented food samples. Among these isolates, 110 were rod-shaped, 7 were oval-shaped and 14 were coccoid-shaped. Agar spot assay using *Staphylococcus aureus* TISTR 118 as the test organism revealed that 73 isolates could inhibit *S. aureus*. Furthermore, agar well diffusion assay of the 73 isolates showed that 21 isolates could still inhibit *S. aureus*. Eight isolates which showed the highest antibacterial activities were selected. Treatment of culture supernatants obtained from the 8 isolates with proteolytic enzymes could neutralize their antibacterial activities, therefore, suggesting that the antibacterial substances were proteins, probably bacteriocins. In particular, the antibacterial capability of the isolate FFL17-2, isolated from fermented minced-fish (Pla-Som-Fug) from Lopburi Province, was reported to be more stable than those of the others. The isolate FFL17-2 was identified as *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* using API 20 Strep (BioMerieux) and was confirmed by a molecular genetic technique based on the Amplified fragment length polymorphism and Restriction fragment length polymorphism of glutamate decarboxylase gene (*gadB*).

Characterization of the bacteriocin from *L. lactis* subsp. *lactis* FFL17-2 showed that its activity was not affected when treated at 100°C for 10 minutes, and was stable at pH 4-7. In addition, it was found to be a broad-spectrum bacteriocin which could inhibit *S. aureus*, *Lactobacillus sakei*, *L. plantarum*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Streptococcus salivarius*, *Latococcus cremoris*, *Bacillus cereus*, *B. circulans*, *B. coagulans* and *Listeria monocytogenes*. The antibacterial activity against *S. aureus* and *L. sakei* was estimated to be equivalent to 75% of 50 mg/ml commercial nisin.