

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลยับยั้งของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูงต่อการเจริญของ <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> และ <i>Aspergillus flavus</i>	
ชื่อผู้เขียน	นางไพรินทร์ บุตรกระจำง	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อภิญญา พลิกอมล	ประธานกรรมการ
	อาจารย์ ดร. อูราภรณ์ สอาดสุด	กรรมการ
	อาจารย์ ดร. คารารัตน์ ทองขาว	กรรมการ

บทคัดย่อ

การแยกและการคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูง จากอาหารหมักคอง 153 ตัวอย่าง โดยใช้อาหาร de Man Rogossa Sharpe (MRS) ที่มี bromocresol green เป็นอินดิเคเตอร์ ได้เชื้อบริสุทธิ์ 117 ไอโซเลท นำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Aspergillus flavus* รวมทั้งเชื้อทดสอบอ้างอิง *Salmonella enteritidis*, *Vibrio parahaemolyticus* และ *Bacillus cereus* โดย paper disc diffusion method พบว่าไอโซเลทที่ให้ผลยับยั้งต่อ *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *V. parahaemolyticus* และ *B. cereus* มีจำนวน 5, 19, 3, 4, 18 ไอโซเลทตามลำดับ มี 6 ไอโซเลทที่ยับยั้ง *Sacch. cerevisiae* ได้บางส่วน (intermediate inhibition zone) มี 3 ไอโซเลทที่ยับยั้ง *A. flavus* ได้เฉพาะในตอนเช้า สร้างเส้นใย ไอโซเลทที่ให้ผลยับยั้งเชื้อทดสอบได้อย่างน้อย 3 ชนิดมี 5 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท CT10, CT16, CT23, CT62 และ CT109 การยับยั้งเป็นผลเนื่องมาจากกรดที่เชื้อสร้างขึ้น เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลทมาทำให้เป็นกลางพบว่าไอโซเลท CT16 และ CT62 เท่านั้นที่ยังคงสามารถยับยั้ง *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ เมื่อนำ CT16 และ CT62 ไปศึกษาคุณสมบัติของสารยับยั้ง พบว่า สารยับยั้งมีคุณสมบัติทนความร้อนที่ 100°C ได้นาน 10 นาที ถูกทำลายได้

ด้วยเอนไซม์โปรติเอส ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่เรียสาวยพันธุ์ใกล้เคียงกันและยับยั้งได้เฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกคือ *S. aureus* และ *B. cereus* สารยับยั้งที่สร้างจาก CT62 ทำให้บริสุทธิ์บางส่วนได้ด้วยการตกตะกอนโปรตีนด้วยผงถ่านความเข้มข้น 1, 2 และ 3% การตกตะกอนโปรตีนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัว 70% การทำไคอะไลซิส และยังคงให้ผลการยับยั้งต่อ *S. aureus* และ *B. cereus* ได้ แต่ไม่สามารถแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์และหามวลโมเลกุลโดยวิธี SDS-PAGE ได้ จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยา การทดสอบทางชีวเคมีของไอโซเลท CT16 และ CT62 พบว่าอยู่ในจีแนส *Pediococcus*

Thesis Title	Inhibitory Effect of Thermotolerant Lactic Acid Bacteria on Growth of <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> and <i>Aspergillus flavus</i>	
Author	Mrs. Pirin Butkrachang	
M.S.	Biology	
Examining Committee	Assistant Professor Abhinya Plikomol	Chairperson
	Lecturer Dr. Uraporn Sardud	Member
	Lecturer Dr. Dararat Tongkao	Member

Abstract

Isolation and selection of thermotolerant lactic acid bacteria from 153 fermented food samples were done by using de Man Rogossa Sharpe (MRS) medium containing bromocresol green as an indicator. One hundred and seventeen isolates were tested for inhibitory activity against four tested organisms; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae* and *Aspergillus flavus* as well as the reference tested organisms: *Salmonella enteritidis*, *Vibrio parahaemolyticus* and *Bacillus cereus* by paper disc diffusion method. It was found that the number of isolates inhibiting *E. coli*, *S. aureus*, *S. enteritidis*, *V. parahaemolyticus* and *B. cereus* were 5, 19, 3, 4 and 18 isolates, respectively. Six isolates had intermediate activity against *Sacch. cerevisiae* and 3 isolates inhibited mycelial growth of *A. flavus*. Five isolates, CT10, CT16, CT23, CT62 and CT109 could inhibit at least 3 tested organisms. Inhibition was due to the organic acid produced. When culture media of the 5 isolates were neutralized, it was found that CT16 and CT62 still inhibited *S. aureus* and *B. cereus*. The inhibitory substances produced by CT16 and CT62 were stable at 100°C for 10 minutes, inactivated by protease, inhibited closely related strains of lactic acid bacteria and other gram positive bacteria i.e. *S. aureus* and *B. cereus*. The inhibitory substance produced by CT62 was purified by precipitation with 1, 2 and

3% activated charcoal, 70% saturated ammonium sulfate and by dialysis. It still inhibited *S. aureus* and *B. cereus*. However, it could not be purified and the molecular weight could not be determined by SDS-PAGE. Morphological and biochemical examination of isolates CT16 and CT62 revealed that they belonged to the Genus *Pediococcus*.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University