

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแยกและการคัดกรองแบคทีเรียกรดแลกติกที่สามารถยับยั้ง
การเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* บางสายพันธุ์ที่แยกจากสุกร

ผู้เขียน นายมงคล ปัญญารัตน์

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ทองไว

บทคัดย่อ

แบคทีเรียกรดแลกติกจำนวน 145 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากอาหารหมักดอง ผัก ผลไม้ นม
ผลิตภัณฑ์จากนม ผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ ตัวอย่าง rectal swab จากสุกร ดิน และแบคทีเรียกรด
แลกติกสายพันธุ์มาตรฐานจำนวน 15 สายพันธุ์ ถูกนำมาเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่ 37°C
เป็นเวลา 96 ชั่วโมง น้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้ถูกนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ
ทดสอบ 10 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* O157: H7 สายพันธุ์มาตรฐาน 1 สายพันธุ์ และ
E. coli ที่แยกจากสุกรอุจจาระร่วง 9 สายพันธุ์ที่มีลักษณะคือต่อยาปฏิชีวนะ 8 ชนิดหรือชนิดใด
ชนิดหนึ่ง คือ ampicillin (10 µg), cephalothin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), gentamicin (10
µg), imipenem (10 µg), kanamycin (30 µg), norfloxacin (10 µg) และ tetracycline (30 µg) และ/
หรือ β - hemolysis *Escherichia coli* โดยวิธี paper disc diffusion พบว่ามีแบคทีเรียกรด
แลกติกเพียง 43 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบได้ทั้งหมด ความสามารถในการ
ทดสอบนี้ลดลงเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะไร้ออกซิเจน และสูญเสียความสามารถในการยับยั้ง
การเจริญของเชื้อทดสอบ เมื่อปรับ pH ของน้ำเลี้ยงเชื้อให้เป็น 7 จึงสันนิษฐานว่ากรดอินทรีย์และ
ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลกติกเป็นสารสำคัญในการยับยั้งการเจริญของ
เชื้อทดสอบ เมื่อนำแบคทีเรียกรดแลกติกที่คัดเลือกได้มาทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของการเป็น
โปรไบโอติก พบว่า มีเพียง 4 สายพันธุ์ คือ LAB002, LAB018, LAB059 และ LAB060 ที่มี

ความสามารถทนเกลือน้ำเค็มที่ความเข้มข้น 0.30% ทนกรดที่ระดับ pH 3.0 สามารถเจริญได้ทั้งในสถานะที่มีและไม่มีออกซิเจน เจริญได้ที่อุณหภูมิ 45°C และ 50°C มีความต้านทานต่อยาปฏิชีวนะ และมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารบางชนิดได้ การตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีบางประการบ่งบอกว่า LAB002 และ LAB059 คือ *Lactobacillus plantarum* ส่วน LAB018 และ LAB060 คือ *Lactobacillus brevis* เชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์มีสถานะที่เหมาะสมในการสร้างสารยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ทดสอบ คือ อาหาร MRS broth ที่มีส่วนประกอบของ glucose 2% (w/v) และ yeast extract 2% pH เริ่มต้น 6.5 อุณหภูมิ 37°C เวลา 96 ชั่วโมง

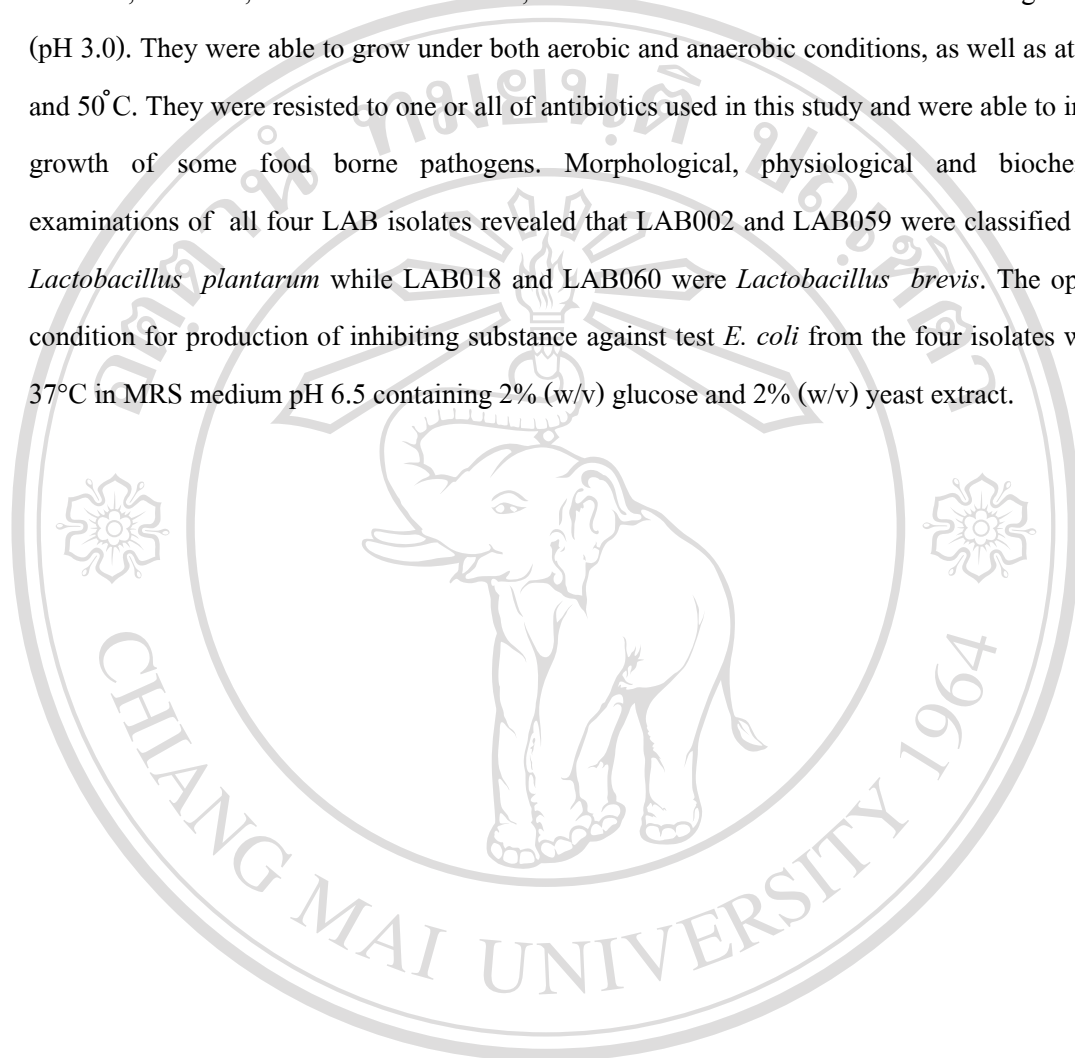
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Isolation and Screening of Lactic Acid Bacteria Capable of Inhibiting Growth of Some <i>Escherichia coli</i> Strains Isolated from Swine
Author	Mr. Mongkhon Panyarat
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Narumol Thongwai

Abstract

One hundred and forty-five isolates of lactic acid bacteria (LAB) isolated from soils, fermented foods, vegetables, fruits, milk and swine rectal swab samples as well as fifteen reference strains of LAB were cultivated in MRS broth at 37°C for 96 hours. Each culture supernatant was evaluated its ability to inhibit growth of test *Escherichia coli* by using a paper disc diffusion method. The test *E. coli* were *E. coli* O157:H7 and 9 isolates of *E. coli* isolated from diarrheic swine which resisted to one or all of the following antibiotics; ampicillin (10 µg), cephalothin (30 µg), chloramphenicol (30 µg), gentamicin (10 µg), imipenem (10 µg), kanamycin (30 µg), norfloxacin (10 µg) and tetracycline (30 µg) and/or β-hemolysis *Escherichia coli*. It was found that only forty-three isolates of LAB were able to inhibit growth of all test *E. coli*. The inhibitory activity of all forty-three isolates were decreased when cultivated in anaerobic condition. The inhibitory activity was lost when pH of culture supernatants were adjusted to 6.5-7. The results implied that organic acid and hydrogen peroxide (H₂O₂) produced by LAB might play an important role in growth inhibition of test organisms. When the forty-three isolates were tested for their preliminary probiotic properties it was found that only four isolates namely

LAB002, LAB018, LAB059 and LAB060, were tolerance to 0.30% bile salts and high acidity (pH 3.0). They were able to grow under both aerobic and anaerobic conditions, as well as at 45°C and 50°C. They were resisted to one or all of antibiotics used in this study and were able to inhibit growth of some food borne pathogens. Morphological, physiological and biochemical examinations of all four LAB isolates revealed that LAB002 and LAB059 were classified to be *Lactobacillus plantarum* while LAB018 and LAB060 were *Lactobacillus brevis*. The optimal condition for production of inhibiting substance against test *E. coli* from the four isolates was at 37°C in MRS medium pH 6.5 containing 2% (w/v) glucose and 2% (w/v) yeast extract.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved