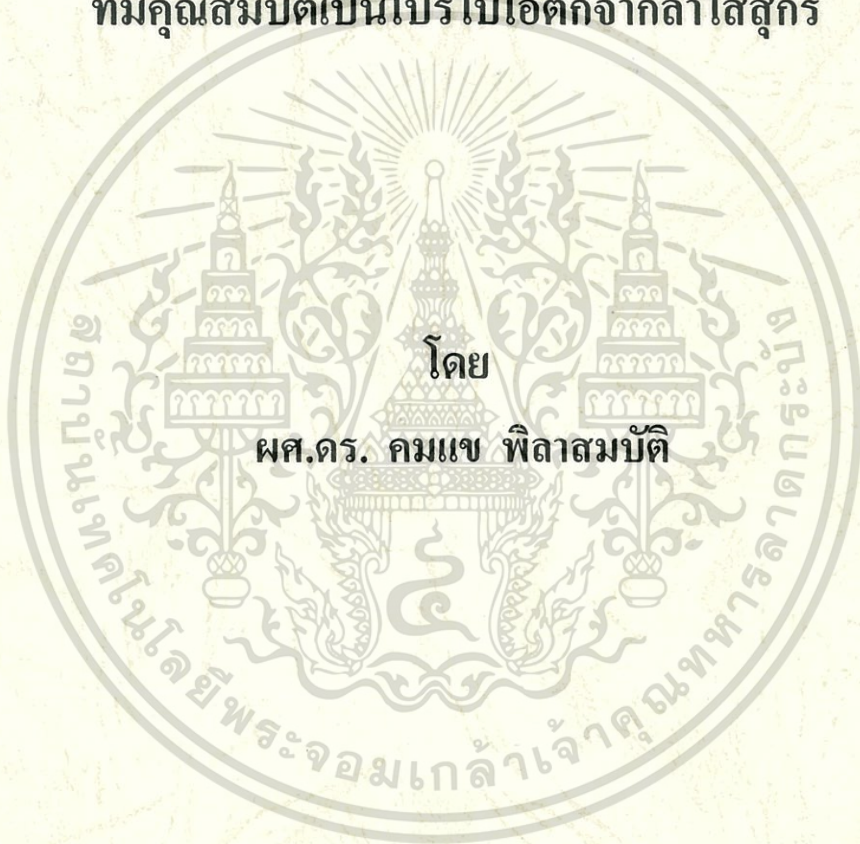


# รายงานการวิจัย

เรื่อง

การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก  
ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณรายได้  
ประจำปีงบประมาณ 2551  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# รายงานการวิจัย

เรื่อง

การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก  
ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณรายได้

ประจำปีงบประมาณ 2551

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

12595342

รายงานการวิจัย  
(ฉบับสมบูรณ์)

เรื่อง

การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก  
ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร



ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณรายได้  
ประจำปีงบประมาณ 2551  
คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการ

ชื่อโครงการ การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก เงินงบประมาณรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
ประจำปีงบประมาณ 2551 จำนวนเงิน 50,000 บาท  
ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2550 ถึง 30 กันยายน 2552

### หัวหน้าโครงการวิจัย

ผศ.ดร. คมแข พิลาสมบัติ (Assist.Prof.Dr. Komkhae Pilasombut)

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทรศัพท์ : 0-2737-3000 ต่อ 3666 โทรสาร : 0-2326-4313

มือถือ : 085-064-2039 อีเมล : komkhae@yahoo.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง.....	II
สารบัญภาพ.....	III
คำนำ.....	1
วัตถุประสงค์.....	2
งานวิจัย	
ตรวจเอกสาร.....	3
อุปกรณ์และวิธีการ.....	22
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	30
สรุปผลการทดลอง.....	40
เอกสารอ้างอิง.....	41
ภาคผนวก ก.....	46
ภาคผนวก ข.....	49



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 แสดงคำจำกัดความของ โปรไบโอติก .....	4
ตารางที่ 2 แสดงโปรไบโอติกบางชนิดที่นำมาประยุกต์ใช้ทางการค้า .....	13
ตารางที่ 3 <i>Lactobacilli</i> ที่เคยตรวจพบในระบบทางเดินอาหารสุกร .....	17
ตารางที่ 4 <i>Streptococci</i> ที่เคยตรวจพบในระบบทางเดินอาหารสุกร .....	18
ตารางที่ 5 ชนิดของโปรไบโอติกที่ช่วยป้องกันโรคในทางเดินอาหารสุกร .....	18
ตารางที่ 6 ผลของโปรไบโอติกต่อการอัตราการเจริญเติบโตในสุกร .....	20
ตารางที่ 7 ชนิดของเชื้อทดสอบและสภาวะที่สามารถเจริญเติบโต .....	22
ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่พบในส่วนต่างๆของลำไส้สุกร .....	30
ตารางที่ 9 แบคทีเรียกรดแลกติกที่ทนต่อกรด โซเดียมคลอไรด์ Ox-bile Bile salt และน้ำดีผสม.....	32
ตารางที่ 10 ลักษณะทางกายภาพของ D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14 .....	37
ตารางที่ 11 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลกติกด้วย API 50 CHL Kit .....	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 เซลล์ของ <i>Lb. reuteri</i> CRL 1098 ที่ทดสอบด้วยกรดน้ำดี .....	6
ภาพที่ 2 ระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้ .....	9
ภาพที่ 3 ลำดับของการเกิดมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อต่อม .....	11
ภาพที่ 4 ระบบทางเดินอาหารของสุกร .....	16
ภาพที่ 5 ค่ากิจกรรมการทนต่อกรดน้ำดีของไอโซเลท I11 และ B57 .....	34



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคัดแยกและการศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก  
ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร

คำนำ

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) เป็นแบคทีเรียที่พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ และในระบบทางเดินอาหารสัตว์ มีบทบาทสำคัญในสร้างสารยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค สารที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างออกมา ส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก กรดอะซิติก และแบคทีเรียโอซิน นอกจากนี้ยังมีสารชนิดอื่นๆ ในปริมาณน้อย แต่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดต่างๆ ได้

แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก มีคุณสมบัติ คือ มีความปลอดภัย ยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค สามารถมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารได้ดี และคุณสมบัติอื่นๆ ที่ช่วยให้สุขภาพของเจ้าบ้านดีขึ้น ซึ่งในลำไส้สุกรส่วนต่างๆ มีจุลินทรีย์มากมาย โดยเฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่น ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อศึกษาคุณสมบัติที่เป็นโปรไบโอติก เพื่อนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และอุตสาหกรรมอาหารต่อไป เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการตัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก

## จากคำได้สุกร

2. จำแนกชนิดแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็น โปรไบโอติก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตรวจเอกสาร

### 1. วิวัฒนาการของแนวคิดเกี่ยวกับโปรไบโอติก

Vasiljevic and Shah (2008) รายงานว่า Ilya Metchnikoff กล่าวว่า ชาวชนบทของประเทศบัลแกเรีย มีอายุขัยเฉลี่ย 87 ปี และทุกๆ หนึ่งพันคนจะมีอยู่ 4 คนที่มีอายุเกิน 100 ปี ความแตกต่างของวิถีชีวิตของพวกเขาที่สำคัญอย่างหนึ่ง เมื่อเปรียบเทียบกับคนในสมัยเดียวกันคือ คนส่วนใหญ่จะบริโภคนมหมัก Metchnikoff ให้ข้อเสนอว่า ร่างกายมนุษย์จะมีสารพิษเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยที่สารพิษที่มีอยู่ในร่างกายถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อก่อโรคในลำไส้ และความต้านทานของร่างกายจะอ่อนแอลงเนื่องจากการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วของเชื้อเหล่านั้น ซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการบริโภคนมเปรี้ยวและแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ซึ่ง เสาวนีย์ ธรรมสถิตติ (2547) รายงานว่า ความนิยมและยอมรับการรักษาสุขภาพเช่นนี้เกิดขึ้นอย่างช้าๆ เนื่องจากแต่เดิมนักวิทยาศาสตร์ประกอบสรรพคุณที่ชัดเจน อีกทั้งยังเชื่อว่าหากใช้เกินขนาดอาจทำให้เกิดการคือยาปฏิชีวนะที่ใช้ในการรักษาโรคอีกด้วย ต่อมาเมื่อมีข้อมูลหลักฐานที่เชื่อถือได้มากขึ้น จึงเป็นที่นิยมใช้กันทั่วไป

### 2. คำจำกัดความของโปรไบโอติก

คำว่า “probitics” ตรงข้ามกับคำว่า “antibiotic” เป็นคำที่มาจากภาษากรีกคือ  $\pi\rho\omicron$  และ  $\beta\iota\omicron\tau\omicron\varsigma$  แปลว่า เพื่อชีวิต (for life) โปรไบโอติกมีหลายนิยามด้วยกัน (ตารางที่ 1) (Vasiljevic and Shah. 2008) โดยสรุปคือ โปรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ มีสมบัติในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร และทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ สามารถผลิตกรดแลคติก และสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นได้ อีกทั้งยังทำให้เกิดสมดุลในระบบการย่อยอาหาร การขับถ่าย ช่วยในการพัฒนาสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ให้ดีขึ้น (อัจฉรา เพิ่ม. 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 1 แสดงคำจำกัดความของโปรไบโอติก

ปี ค.ศ.	คำจำกัดความ
1953	โปรไบโอติกอยู่ในอาหารประเภทผักในรูปของวิตามิน สารอะโรมาติก เอนไซม์ และสารอื่นๆ ที่อาจจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการที่สำคัญของร่างกาย
1954	โปรไบโอติกตรงกันข้ามกับสารปฏิชีวนะ
1955	ผลกระทบที่เป็นอันตรายของสารปฏิชีวนะสามารถป้องกันได้โดยการรักษาด้วยโปรไบโอติก
1965	สารชนิดหนึ่งที่ถูกหลั่งออกมาโดยจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งแล้วไปกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ
1971	สารที่สกัดออกมาจากเนื้อเยื่อซึ่งจะไปกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์
1973	สารประกอบที่ก่อให้เกิดความต้านทานต่อการติดเชื้อของเจ้าบ้าน แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง
1974	จุลินทรีย์และสารที่ช่วยให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้
1992	จุลินทรีย์มีชีวิตที่ส่งเสริมลงในอาหารแล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้านโดยช่วยให้สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ดีขึ้น
1992	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตชนิดเดียวหรือหลายชนิด ที่นำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์หรือมนุษย์ มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน โดยช่วยปรับปรุงคุณสมบัติที่มีอยู่เดิมของจุลินทรีย์ให้ดีขึ้น
1996	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือจุลินทรีย์จากผลิตภัณฑ์นม ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและให้โภชนาการแก่เจ้าบ้าน
1996	จุลินทรีย์มีชีวิต ที่เมื่อได้รับในปริมาณที่แน่นอนจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ
1999	เซลล์จุลินทรีย์หรือส่วนประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและความปลอดภัยของเจ้าบ้าน
2001	ผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในจำนวนที่เพียงพอ ซึ่งจะเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์เดิมของเจ้าบ้านและก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้านที่ได้รับเข้าไป
2002	จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน

ที่มา : Vasiljevic and Shah (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. คุณสมบัติของโปรไบโอติก

3.1 คุณสมบัติของจุลินทรีย์ที่จะใช้เป็นโปรไบโอติกคือได้รับการยอมรับว่าปลอดภัย (generally recognized as safe : GRAS) (Taranto *et al.* 2006)

#### 3.2 ทนต่อสารหลังในระบบทางเดินอาหาร

การที่จะให้ผลที่เป็นประโยชน์ต่อสัตว์เจ้าบ้านได้นั้นโปรไบโอติกต้องสามารถที่จะอยู่รอดผ่านกระเพาะและลำไส้ และมีปริมาณเพียงพอที่จะไปถึงลำไส้ใหญ่ นั่นหมายความว่าเชื้อโปรไบโอติกต้องทนกรดและเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease) ของกระเพาะอาหาร อยู่รอดและเจริญในสถานะที่มีกรดน้ำดี (Piano *et al.* 2006)

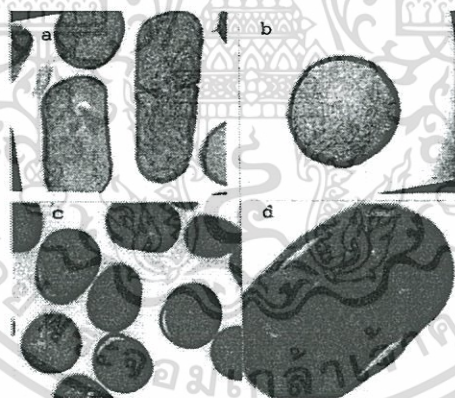
##### 3.2.1 การอยู่รอดในระหว่างผ่านกระเพาะอาหาร

ผลที่มีต่อเชื้อจุลินทรีย์เดิมหรือสุขภาพที่แข็งแรงของสัตว์เจ้าบ้าน คือแบคทีเรียต้องยังคงอยู่รอดในระหว่างการลำเลียงผ่านกระเพาะและลำไส้ (Zárate *et al.* 2000) แต่ก่อนที่จะไปถึงลำไส้แบคทีเรียต้องผ่านกระเพาะซึ่งเป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการผ่านเข้าไปถึงลำไส้ (Morelli. 2007) น้ำย่อยที่ถูกหลั่งออกมาจากกระเพาะอาหารทุกวันเป็นสาเหตุในการทำลายจุลินทรีย์ที่ได้รับเข้าสู่ร่างกาย ดังนั้นความทนต่อน้ำย่อยจึงเป็นหลักการคัดเลือกโปรไบโอติกที่สำคัญ (Vinderola and Reinheimer. 2003; Succì *et al.* 2005) การอยู่รอดของของแบคทีเรียในน้ำย่อยของกระเพาะขึ้นอยู่กับความสามารถในการทนต่อพีเอชต่ำ กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ถูกหลั่งออกมาจากกระเพาะอาหารมีพีเอช 0.9 เมื่อมีอาหารค่าพีเอชจะเพิ่มขึ้นถึงระดับพีเอช 3 เมื่ออาหารเข้าสู่ร่างกายจะใช้เวลาอยู่ในกระเพาะ 2-4 ชั่วโมง Lactobacilli ที่เจริญในไส้กรอกหมักอยู่รอดได้ดีกว่า Lactobacilli ที่สัมผัสกับพีเอชต่ำโดยตรง เนื่องจากไส้กรอกหมักประกอบด้วยเนื้อและไขมันห่อหุ้ม Lactobacilli ไว้ (Erkkilä and Petäjä. 2000) Zárate *et al.* (2000) กล่าวว่า skim milk และ cheese juice ในหลอดทดลองให้ผลในการป้องกัน การเพิ่มพีเอชของน้ำย่อย เพิ่มการอยู่รอด และการทำงานของเอนไซม์  $\beta$ -galactosidase ของ propionibacteria Klingberg and Budde (2006) กล่าวว่าความทนในกระเพาะอาหารของแบคทีเรียมีความจำเพาะกับสัตว์เจ้าบ้านและมีอัตราการอยู่รอดเพิ่มขึ้นเมื่อให้เชื้อแบบหมักในไส้กรอกหมัก

##### 3.2.2 ความทนต่อกรดน้ำดี

เชื้อจุลินทรีย์เดิมที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารต้องเผชิญกับน้ำดีซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการเมตาบอลิซึมโคเลสเตอรอลในตับ และมีบทบาทสำคัญในการย่อยไขมันเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นแอมฟิพาติก (Taranto *et al.* 2006) น้ำดีจัดเป็นดีเทอร์เจนต์ต่อจุลินทรีย์ เนื่องจากเชื้อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ประกอบด้วยไขมันและกรดไขมัน อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์บางชนิดสามารถย่อยเกลือน้ำดีได้ด้วยเอนไซม์ bile salt hydrolase (BSH) การละลายของเกลือน้ำดีจึงลดลงทำให้ความเป็นดีเทอร์เจนต์ของเกลือน้ำดีลดลง การทำงานของ BSH พบในหลายสปีชีส์ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวมทั้ง *Lactobacillus* การทนต่อน้ำดีมีความผันแปรมากระหว่างสายพันธุ์และชนิดของ *Lactobacillus* (Erkkilä and Petäjä. 2000) นอกจากนี้กรดน้ำดีสารผสม (conjugated bile acids) จะยับยั้งแบคทีเรียทั้งแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจนที่อยู่ในทางเดินอาหารได้น้อยกว่ากรดน้ำดีอิสระ (free bile acids) การอยู่รอดในสภาพแวดล้อมที่มีน้ำดีสูงต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ เพิ่มขึ้นเป็นทวีคูณ เช่น ระบบตอบสนองต่อความเครียด และการควบคุมกระบวนการทรานสคริปชันซึ่งมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ การเผาผลาญพลังงาน การขนส่งกรดอะมิโน และกรดไขมันหรือไอโซพรีน (Taranto *et al.* 2006) การทดสอบความทนต่อน้ำดีโดยทั่วไปจะทำการทดสอบด้วย porcine bile หรือ bovine bile (oxgall) 0.3 เปอร์เซ็นต์ (Piano *et al.* 2006) ความสามารถในการอยู่รอดต่อการทำงานของน้ำดีเป็นหลักการทำไปที่ใช้เพื่อคัดเลือกโปรไบโอติกที่มีศักยภาพ (Morelli. 2007) Taranto *et al.* (2006) ได้ทำการทดสอบความเป็นพิษของ deoxycholic acid (DCA) ซึ่งเป็นน้ำดีอิสระ และ taurine-conjugated (TDCA) ซึ่งเป็นน้ำดีสารผสมต่อ *Lb. reuteri* CRL 1098 สายพันธุ์ที่มีศักยภาพเป็นโปรไบโอติก พบว่า เซลล์ที่ทดสอบด้วย TDCA (ภาพที่ 1b) มีลักษณะเหมือนกับเซลล์ในกลุ่มควบคุมที่ไม่ถูกทดสอบด้วยน้ำดี คือ เห็นขอบเขตของผนังเซลล์ และเยื่อหุ้มเซลล์ชัดเจน (ภาพที่ 1a) ในขณะที่เซลล์ที่ทดสอบด้วย DCA เกิดความผิดปกติขึ้นที่โครงสร้างของผิวเซลล์ ที่เห็นได้ชัดคือ เยื่อหุ้มเซลล์แยกออกจากผนังเซลล์ (ภาพที่ 1c-1d)



ภาพที่ 1 เซลล์ของ *Lb. reuteri* CRL 1098 ที่ทดสอบด้วยกรดน้ำดี

- (a) กลุ่มควบคุม
- (b) ถูกทดสอบด้วย Taurodeoxycholate (conjugated bile acid)
- (c) และ (d) ถูกทดสอบด้วย deoxycholate (free bile acid)

ที่มา : Taranto *et al.* (2006)

### 3.3 สร้างสารที่ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

ในอุตสาหกรรมอาหารหมักดองใช้กล้าเชื้อแบคทีเรีย (starter culture) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติกทำหน้าที่สำคัญในกระบวนการผลิต โดยทำให้เกิดปฏิกิริยาการสร้างกรด (rapid acidification) จากสารตั้งต้น (substrate) ผลผลิตที่ได้โดยส่วนใหญ่จะเป็นกรดแลกติก นอกจากนี้ยังสามารถสร้างกรดอะซิติก เอทานอล (ethanol) สารประกอบอะโรมาติก (aromatic compound) และแบคทีริโอซิน (bacteriocin) ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการผลิตสารดังกล่าวขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมด้วย นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกบางสายพันธุ์ยังสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการถนอมอาหารทดแทนการใช้สารเคมี เช่น โปแทสเซียมไนเตรต เป็นต้น จากการสร้างเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลขนาดเล็กหรือที่เรียกว่า แบคทีริโอซิน ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการสร้างวิตามินซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าของอาหาร การเลือกใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสมจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคได้อีกด้วย ดังนั้นการคัดเลือกและพัฒนาเชื้อเริ่มต้นจึงมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง (Leroy and De Vuyst, 2004) สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สร้างโดยแบคทีเรียแลกติกได้แก่

#### 3.3.1 การผลิตแบคทีริโอซิน (Bacteriocin)

แบคทีริโอซิน คือสารประกอบประเภท โปรตีนที่สร้างขึ้น โดยแบคทีเรีย ซึ่งสร้างได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ มีโครงสร้างเป็นเพปไทด์สายเล็กๆ เป็นสารที่มีฤทธิ์ทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่นบางชนิดได้ โดยเฉพาะแบคทีริโอซินที่สร้างโดยแกรมบวกบางชนิดที่มีความจำเพาะน้อย จึงทำให้มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ ได้หลายชนิดมากขึ้น รวมทั้งชนิดที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และชนิดที่ทำให้เกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ด้วย จึงถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหารได้

#### 3.3.2 การลดลงของพีเอช (pH) เนื่องจากการสร้างกรดอินทรีย์

การเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลกติก จะสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลกติกและกรดอะซิติก เป็นต้น เป็นสารเมตาบอลิท์ทุติยภูมิ มีผลทำให้ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ของซบสเตอร์ต่ำลง ความเป็นกรดสูงและพีเอชต่ำ จึงมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ (สุเมธนา วัฒนสินธุ์, 2545) Swetwathana *et al.* (1999) กล่าวว่า กรดแลกติกที่สร้างจากคาร์โบไฮเดรตโดยตระกูลของ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. จะทำให้ pH ต่ำลง และไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว

#### 3.3.3 การเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

Otero and Nader-Macias (2006) ได้ทำการศึกษาการยับยั้ง *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ภายหลังการคลอด ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สร้างจาก *Lb. gasseri* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากช่องคลอดของโคกระบือ พบว่า *Lb. gasseri* สามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ปริมาณมาก เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ร่วมกับเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*S. aureus* พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 6 ชั่วโมง การเจริญของ *S. aureus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออยู่ในตู้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดแลกติกที่หลั่งออกมาโดย *Lactobacilli* จะสามารถทำลายเซลล์ของ *S. aureus* ได้

### 3.3.4 การเกิดเอทานอล (ethanol)

สุมณฑา วัฒนสินธุ์ (2545) รายงานว่า การหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟในสภาวะที่ไม่มีอากาศทำให้เกิดเอทานอลขึ้น เอทานอลเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง ทำให้แบคทีเรียแลกติกได้เปรียบในการแข่งขันเหนือแบคทีเรียอื่นๆ ในการเจริญเติบโต แม้ว่าเอทานอลที่เกิดขึ้นไม่มากนักก็ตาม นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆ อีก แต่มีความสำคัญน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกรดแลกติกที่แบคทีเรียผลิต จนมีผลทำให้พีเอชของซัสเพนดลดลงมาอยู่ระหว่าง 3.5-4.5 แลกติกเป็นกรดที่มีราคาแพงและนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมผลิตอาหารและยา

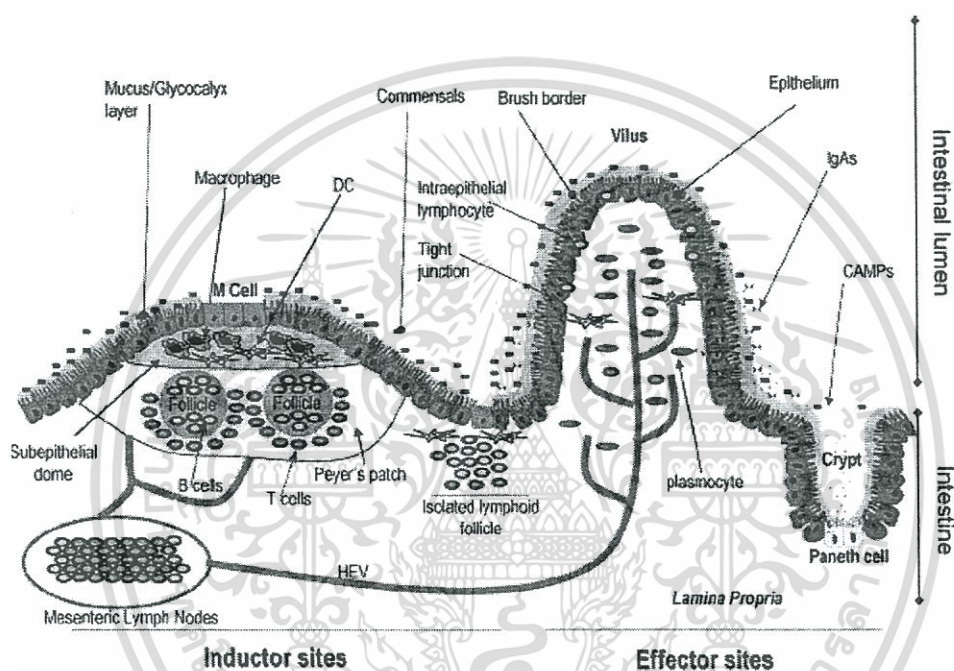
### 3.4 การยึดเกาะกับลำไส้

ความสามารถในการยึดเกาะกับลำไส้เป็นหลักการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่จะใช้เป็นโปรไบโอติกที่สำคัญ เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของสัตว์เจ้าบ้าน เช่นการแข่งขันกับเชื้อก่อโรคหรือการควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน (Rinkinen *et al.* 2003) การยึดเกาะกับลำไส้ของโปรไบโอติกเป็นสิ่งจำเป็นต่อการสร้างโคโลนิ เมื่อไปถึงลำไส้โปรไบโอติกต้องเกาะติดกับ brush border ของ microvilli หรือยึดเกาะกับชั้นเยื่อผิว (mucus layer) โดยไม่ถูกปัดออกจากลำไส้ใหญ่จากการเคลื่อนไหวแบบ peristalsis องค์ประกอบของผิวเซลล์แบคทีเรียมีส่วนเกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของแบคทีเรียกับเซลล์เยื่อผิวในลำไส้ การยึดเกาะกับลำไส้มีมนุษย์ของ *Lactobacilli* เกี่ยวข้องกับปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่แตกต่างกัน บนผิวเซลล์ของแบคทีเรีย องค์ประกอบนี้มีผลต่อการยึดเกาะของ *Lactobacilli* กับเซลล์ของคลอดด้วย ซึ่งต่างกับกรด lipoteichoic ที่เกี่ยวข้องกับการยึดเกาะของ *Lactobacilli* กับเซลล์เยื่อระบบขับถ่ายปัสสาวะ (Fernández *et al.* 2003) จากการศึกษาของ Fernández *et al.* (2003) พบว่าการยึดเกาะของ *Lb. gasseri* เกี่ยวข้องกับโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต (อาจเป็นไกลโคโปรตีน) ในขณะที่ *Lb. acidophilus* จะขึ้นอยู่กับคาร์โบไฮเดรต และมีความสามารถในการยึดเกาะกับ caco-2 cells ได้แตกต่างกันมากในระหว่างสปีชีส์ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rinkinen *et al.* (2003) ที่พบว่าคุณสมบัติในการยึดเกาะกับเยื่อผิวขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียแลกติกมากกว่าชนิดของสัตว์เจ้าบ้าน

### 3.5 กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์

สามารถพบได้ในแลคโตบาซิลลัสที่สามารถกระตุ้นการสร้างแกมมาโกลบูลิน (gamma globulin) แกมมาอินเตอร์เฟอรอน (gamma interferon) และส่งเสริมกิจกรรมของแมคโครฟาจ (macrophage) ซึ่งเป็นสาเหตุของการกำจัดเชื้อโรคออกจากร่างกาย (อัจฉรา เพิ่ม. 2550) โปรไบโอติกมีอิทธิพลต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน โดยไปกระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่อยู่ในเนื้อเยื่อ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำเหลืองบริเวณลำไส้ เนื้อเยื่อน้ำเหลืองนี้แพร่กระจายอยู่ระหว่างชั้นของเซลล์เยื่อบุผิว และถัดมาจนเกือบถึงเซลล์กล้ามเนื้อ (Madara. 1997) โปรไบโอติกสามารถกระตุ้นเนื้อเยื่อน้ำเหลืองบริเวณลำไส้โดยตัวโปรไบโอติก หรือชิ้นส่วนของโปรไบโอติก หรือสารเมตาบอไลต์ที่โปรไบโอติกสร้างขึ้น เรียกสิ่งเหล่านี้ว่า แอนติเจน เมื่อแอนติเจนเข้าไปในลำไส้จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อบุผิว เป็น M cells (Laissue *et al.* 1993) M cells สามารถจับแอนติเจน เซลล์เยื่อบุผิวที่ตายแล้ว (apoptosis) หรือแบคทีเรียจากช่องว่างในลำไส้ แล้วส่งเข้าไปยัง sub-epithelial dome ของ Peyer's patches เพื่อให้ถูกทำลายไปโดยแมคโครฟาจ ดังภาพที่ 2 (Magalhaes *et al.* 2007)



ภาพที่ 2 ระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้  
ที่มา : Magalhaes *et al.* (2007)

### 3.6 ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด

อัจฉรา เพิ่ม (2550) รายงานว่า บทบาทของโคเลสเตอรอลในเลือด หากมีระดับสูงเกินไป มักจะทำให้คนเสี่ยงเส้นเลือดหัวใจอุดตันมากขึ้น แต่คนที่มิโคเลสเตอรอลสูง มักจะได้รับคำแนะนำให้พยายามลดระดับลง โดยมีงานวิจัยส่วนหนึ่งยืนยันว่าการใช้ *Lactobacillus* จะช่วยได้ ทั้งนี้ผู้วิจัยได้ทำกับคนและใช้สัตว์ทดลองอีกชนิดหนึ่ง คือ หมู ในปี พ.ศ. 2517 มีการวิจัยเกี่ยวกับชนเผ่ามาซาชาในแอฟริกา เพื่อศึกษาผลของอิมัลซิฟาย ที่เติมลงในน้ำมันต่อระดับโคเลสเตอรอล ผลการวิจัยแสดงว่า สารอิมัลซิฟายไม่ช่วยในการลดระดับโคเลสเตอรอล แต่น้ำมันที่ผ่านการหมักโดยเชื้อ *Lactobacillus* สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลได้ ไม่ว่าจะเติมสารอิมัลซิฟายหรือไม่เติม เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมามีการวิจัยใน พ.ศ. 2522 โดยใช้กลุ่มอาสาสมัคร พบว่า เมื่อกลุ่มนี้กินนมสดหรือไม่ได้กินผลิตภัณฑ์นมหมัก โคลเลสเตอรอลจะไม่เปลี่ยนแปลง แต่พอกินโยเกิร์ตติดต่อกัน 1 อาทิตย์ ระดับโคลเลสเตอรอลจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด

จากการศึกษาของ Liong and Shah (2004) พบว่า ผู้บริโภคผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกจะมีระดับคลอเรสเตอรอลต่ำ เนื่องจากการผลิตน้ำดีในตับของคนและสัตว์ใช้โคลเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการผลิต โปรไบโอติกที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยน้ำดี (BSH) ทำให้เกิด free bile salt และ cholic acid ซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำดี จึงมีการดูดซึมที่ลำไส้ใหญ่ต่ำ ส่งผลให้มีการใช้โคลเลสเตอรอลเพื่อสร้าง free bile salt และ cholic acid เพิ่มมากขึ้นในตับ ทำให้ระดับโคลเลสเตอรอลในกระแสเลือดลดลง

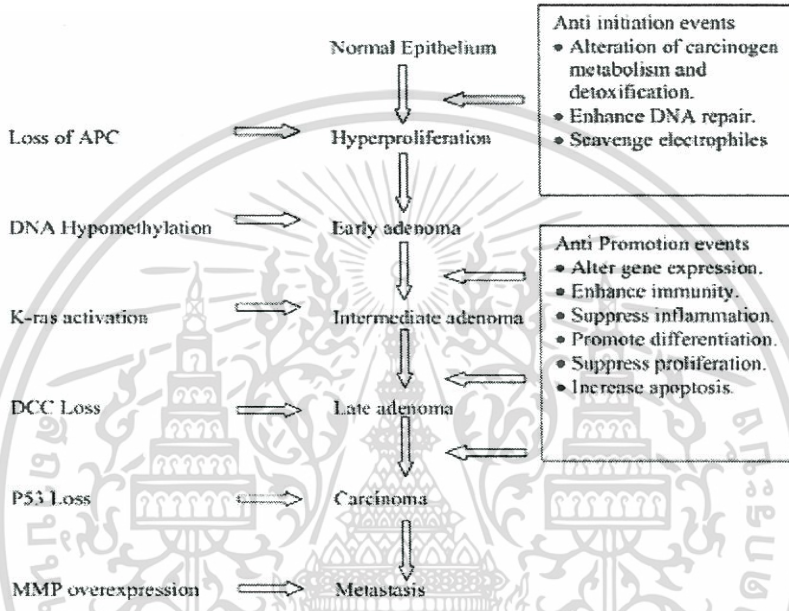
### 3.7 ลดการสังเคราะห์เอมีนที่เป็นพิษในระบบทางเดินอาหาร

Biogenic amine เป็นสารอินทรีย์ที่มีโครงสร้างแบบ aliphatic, aromatic หรือ heterocyclic พบได้ในอาหารชนิดต่างๆ โดยส่วนใหญ่จะถูกสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่มีการดัดแปลงหรือบด (decarboxylation) ออกจากกรดอะมิโน Histamine, tryptamine, tyramine, cadaverine, putrescine และ phenylethylamine ซึ่งพบว่าสารเหล่านี้ไม่เป็นที่ต้องการ เนื่องจากให้ผลลัพธ์ที่เป็นพิษ (Ammor and Mayo, 2007) การบริโภคเอมีนเหล่านี้มากเกินไป สามารถทำให้เกิดโรคประสาท โรคกระเพาะ โรคลำไส้ และโรคความดันโลหิต (Suzzi and Gardini, 2003) แบคทีเรียแลคติกจำนวนมากที่แยกได้จากเนื้อ และผลิตภัณฑ์จากเนื้อ สามารถดัดแปลงหรือบดออกจากกรดอะมิโนสายพันธุ์ของ *Lb. curvatus* เป็นสายพันธุ์ที่สำคัญสายพันธุ์หนึ่งที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตไส้กรอก และมีการสร้างเอมีนปริมาณมาก (Bover-Cid and Holzappel, 1999) การคัดเลือกกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกสำหรับการผลิตไส้กรอกหมักคือ แบคทีเรียแลคติกต้องไม่ทำหน้าที่ในการดัดแปลงหรือบดออกจากกรดอะมิโน การเจริญเพิ่มจำนวนได้รวดเร็ว และการสร้างกรดจะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีการสร้างเอมีนได้ (Ammor and Mayo, 2007) กล้าเชื้อที่ทำหน้าที่ในการออกซิเดสเอมีนอาจจะช่วยในการลด biogenic amine ที่ถูกสร้างขึ้นในระดับเนื้อเยื่อ (in situ) แบคทีเรียแลคติกที่มีรายงานแล้วว่ามิกิจกรรมนี้ ได้แก่ *Lb. plantarum* และ *Lb. casei* (Fadda et al. 2001)

### 3.8 ลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่

Hirayama and Rafter (2000) รายงานว่า มะเร็งลำไส้ใหญ่เป็นสาเหตุของการตายด้วยโรคมะเร็งมากที่สุดในประเทศตะวันตก ผลที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมีผลสืบเนื่องมาจากแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก ยังไม่มีการทดลองโดยตรงที่แสดงให้เห็นถึงการยับยั้งการเกิดมะเร็งในมนุษย์อันเนื่องมาจากการบริโภคเชื้อที่สร้างกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์นมหมักหรือไม่หมัก กลไกการยับยั้งมะเร็งลำไส้ใหญ่ของแบคทีเรียแลคติก ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามกลไกที่เป็นไปได้คือ การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน การจับและย่อยทำลายสารก่อมะเร็ง การสร้างสารประกอบที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดเนื้องอก และสารที่ก่อให้เกิดเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การกลายพันธุ์ในลำไส้ใหญ่ Commane *et al.* (2005) รายงานว่า มะเร็งลำไส้ใหญ่สามารถอธิบายได้จากการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับจุลกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อที่เกิดขึ้นเป็นลำดับต่อเนื่อง ที่เกิดขึ้นจากการกลายพันธุ์ การกระตุ้น และการขาดหายไปของ oncogenes และ tumour suppressor genes มีการอภิปรายในงานวิจัยจำนวนมาก ว่ากระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ โปรไบโอติกอาจจะทำหน้าที่ของมัน ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า สายพันธุ์ของ โปรไบโอติกที่แตกต่างกัน อาจแสดงผลที่ระยะที่แตกต่างกันของการเกิดมะเร็ง ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ลำดับของการเกิดมะเร็งที่เกิดจากเนื้อเยื่อต่อม  
ที่มา : Commane *et al.* (2005)

#### 4. แบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียประเภทแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ และผลิตกรดแลคติก ซึ่งเป็นผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักได้เมื่อมีคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมเป็นสารตั้งต้น (เสาวนีย์ ธรรมสถิตี, 2547) ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาวะที่มีอากาศ แบคทีเรียแลคติกขาดไซโตโครม (cytochrome) และพอร์ไฟลิน (porphyrins) จึงไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลสและออกซิเดส แบคทีเรียในกลุ่มนี้บางชนิดได้รับออกซิเจนโดยผ่านเอนไซม์ฟลาโวโปรตีนออกซิเดส (flavoprotein oxidases) และใช้ออกซิเจนนี้สร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรือใช้เพื่อรีออกซิไดซ์ NADH ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการรีไซโครเจนชั้นของน้ำตาล (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545) โปรไบโอติกอาจเป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตเห็นไปเซบระเขชนดานการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดึกบางชนิดที่นำมาประยุกต์ใช้ทางการค้าแสดงในตารางที่ 2 แบคทีเรียแลคติกที่มีรายงานว่าเป็นโพรไบโอติกมีดังนี้คือ

#### 4.1 *Streptococcus*

Burton *et al.* (2006) รายงานว่า *Streptococcus salivarius* เป็นจุลินทรีย์ที่สำคัญในช่องปาก และมีศักยภาพสำหรับใช้เป็นโพรไบโอติก โดย Burton *et al.* (2006) ได้ทำการศึกษาความปลอดภัยของ *S. salivarius* K12 พบว่าการได้รับ *S. salivarius* K12 เข้าสู่ร่างกายไม่ก่อให้เกิดอันตราย และจากการวิเคราะห์ทางชีวเคมี และโครงสร้างของยีนที่มีความเป็นพิษรุนแรง พบว่า *S. salivarius* K12 มีความเป็นเชื้อก่อโรคร้ายแรง และไม่ก่อให้เกิดการติดเชื้อในมนุษย์ที่มีสุขภาพดี

#### 4.2 *Enterococcus*

Kolodjiev *et al.* (2006) รายงานว่า Enterococci เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่อาศัยอยู่ทั่วไปในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์ชนิดอื่นๆ ซึ่งได้มีการนำเชื้อชนิดนี้ไปใช้เป็นก้ำเชื้อแบคทีเรียสำหรับเสริมในอาหารในลักษณะของโพรไบโอติก Kolodjiev *et al.* (2006) ได้ทำการทดสอบลักษณะความเป็นพิษรุนแรง (ยีน : *gelE*, *sprE*, *esp*, *fsrB*, *asaI*) ของ Enterococci พบว่าลักษณะความเป็นพิษของ *E. faecium* ต่ำกว่า *E. faecalis*

#### 4.3 *Lactococcus*

Kimoto-Nira *et al.* (2007) รายงานว่า lactococci มีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ และเป็นโพรไบโอติกที่มีศักยภาพ *Lactococcus* สายพันธุ์ 527 ยึดเกาะกับ Caco-2 cells ได้ดี *Lactococcus* สายพันธุ์ N7 สามารถกำจัดโคเลสเตอรอลได้มาก *Lactococcus* สายพันธุ์ G50 ช่วยในการเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกัน เช่น การยับยั้งการสร้าง IgE *Lactococcus* สายพันธุ์ N7 และ 527 ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตนมในญี่ปุ่นมาเป็นเวลา 50 ปี สายพันธุ์ G50 ที่แยกได้จากหญ้าสดต้องมีการทดสอบความปลอดภัยอย่างเข้มงวดเพื่อนำไปใช้เป็นโพรไบโอติก

#### 4.4 *Weissella*

Yeonhee (2005) รายงานว่า *Weissella kimchii* PL9023 สามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ปริมาณมาก และให้ลักษณะที่จะใช้เป็นโพรไบโอติกในผู้หญิง *W. kimchii* PL9023 ยับยั้งการเจริญ และการยึดเกาะของ *Candida albicans*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus agalactiae* ที่แยกได้จากช่องคลอด ส่วนประกอบของผิวเซลล์ที่มีผลต่อการยึดเกาะของ *W. kimchii* PL9023 กับเยื่อผิวช่องคลอดคือ ไกลโคโปรตีน *W. kimchii* PL9023 ไม่สร้างสารเมตาบอไลต์ หรือเอนไซม์ที่เป็นอันตราย จากผลการทดลองที่ได้แสดงว่า *W. kimchii* PL9023 เป็นโพรไบโอติกที่มีศักยภาพสำหรับสุขภาพของช่องคลอด

#### 4.5 *Lactobacillus*

จุลินทรีย์ *Lactobacillus* เป็นจุลินทรีย์ประเภทที่ไม่ต้องการอากาศ และรูปร่างไม่แน่นอนแบบท่อนที่โดยปกติแล้วจะมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายสารประเภทคาร์โบไฮเดรต เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีความสัมพันธ์กับระบบเมตาบอลิซึมของเจ้าบ้านโดยตรง (อัจฉรา เพิ่ม. 2550) ระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมชนิดต่างๆ ประกอบด้วย *Lactobacillus* spp. สายพันธุ์ของ *Lactobacilli* ส่วนใหญ่ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารคือ *Lb. brevis*, *Lb. casei*, *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. fermentum* และ *Lb. salivarius* (Slover. 2008)

*Lb. salivarius* เป็นแบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกที่มีศักยภาพชนิดหนึ่งได้แก่ สายพันธุ์ UCC118 เป็น *Lb. salivarius* สายพันธุ์ที่มีการศึกษามากที่สุด ไม่เพียงแต่มีการศึกษาในหลอดทดลองเท่านั้น แต่ยังมีการศึกษาในสัตว์ด้วย ซึ่งพบว่ามีคุณสมบัติในการเป็นโปรไบโอติก โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ทำให้ลดการเกิดอาการอักเสบ (Dunne *et al.* 2001)

## ตารางที่ 2 แสดงโปรไบโอติกบางชนิดที่นำมาประยุกต์ใช้ทางการค้า

สายพันธุ์	แหล่งที่มา
<i>Lb. acidophilus</i> LA1/LA5	Chr. Hansen
<i>Lb. delbrueckii</i> ssp. <i>Bulgaricus</i> Lb12	
<i>Lb. paracasei</i> CRL431	
<i>B. animalis</i> ssp. <i>Lactis</i> Bb12	
<i>Lb. acidophilus</i> NCFM <sup>®</sup>	Danisco
<i>Lb. acidophilus</i> La	
<i>Lb. paracasei</i> Lpc	
<i>B. lactis</i> HOWARU <sup>™</sup> /BI	
<i>Lb. acidophilus</i> LAFTI <sup>®</sup> L10	DSM Food Specialties
<i>B. lactis</i> LAFTI <sup>®</sup> B94	
<i>Lb. paracasei</i> LAFTI <sup>®</sup> L26	
<i>Lb. johnsonii</i> La1	Nestle
<i>Lb. acidophilus</i> SBT-20621	Snow Brand Milk Products Co. Ltd.
<i>B. longum</i> SBT-29281	
<i>Lb. rhamnosus</i> R0011	Institute Rosell
<i>Lb. acidophilus</i> R0052	
<i>Lb. casei</i> Shirota	Yakult

ที่มา : Vasiljevic and Shah (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2 (ต่อ)

สายพันธุ์	แหล่งที่มา
<i>B. breve</i> strain Yakult	
<i>B. lactis</i> HN019 (DR10)	Fonetera
<i>Lb. rhamnosus</i> HN001 (DR20)	
<i>Lb. plantarum</i> 299V	Probi AB
<i>Lb. rhamnosus</i> 271	
<i>Lb. casei</i> Immunitas	Danone
<i>B. animalis</i> DN173010 (Bioactiva)	
<i>Lb. rhamnosus</i> LB21	Essum AB
<i>Lactococcus lactis</i> L1A	
<i>Lb. reuteri</i> SD2112	Biogaia
<i>Lb. rhamnosus</i> GG1	Valio Dairy
<i>Lb. salivarius</i> UCC118	University College Cork
<i>B. longum</i> BB536	Morinaga Milk Industry Co. Ltd.
<i>Lb. acidophilus</i> LB	Lacteol Laboratory
<i>Lb. paracasei</i> F19	Medipharm

ที่มา : Vasiljevic and Shah (2008)

### 5. ระบบทางเดินอาหารสุกร

ระบบ ทางเดินอาหารของสัตว์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกันออกไป สัตว์บางชนิดต้องเคี้ยวอาหารให้ละเอียดก่อนที่จะกลืนอาหารลงกระเพาะ สัตว์บางชนิดอย่างสัตว์ปีกซึ่งไม่มีฟันจะกลืนอาหารเป็นชิ้นลงกระเพาะแต่จะมี อวัยวะพิเศษสำหรับบดย่อยอาหาร ในสัตว์เคี้ยวเอื้องจะเคี้ยวอาหารอย่างหยาบ ๆ กลืนลงกระเพาะปล่อยให้ น้ำย่อยและจุลินทรีย์ในกระเพาะทำการหมักให้อาหารอ่อนตัวก่อนที่จะขยอกอาหารออกมาเคี้ยวให้ละเอียดอีกครั้งหนึ่ง

ประไพพรรณ ลิทธิกุล (2552) กล่าวว่า ระบบย่อยอาหารสุกร (Digestive system) เป็นพวกกระเพาะเคี้ยว (Simple stomach) ย่อยอาหารเชิงกลโดยการบดเคี้ยวด้วยฟัน และย่อยด้วยสารชีวเคมีหรือน้ำย่อย (Digestive Enzyme) องค์ประกอบของระบบย่อยอาหาร มีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปาก (Mouth) สุกรมิมงมุกที่ สามารถคมกลืน ได้ดีมาก และแข็งแรงพิเศษ ใช้ในการขุดคู้ยหาอาหาร มีฟัน ทั้งด้านบนและด้านล่าง บดเคี้ยวอาหารละเอียดมาก และมีต่อมน้ำลาย (Saliva glands) 5 ต่อมน ได้แก่ บริเวณข้างแก้ม (Parotid glands) 2 ต่อมน บริเวณใต้ลิ้น (Sublingual gland) 1 ต่อมน และข้างกรามล่าง (Sub maxillary glands) 2 ต่อมน น้ำลายมีหน้าที่ ทำให้อาหารเปียก กลืนง่าย และยังมีน้ำย่อย Amylase ช่วยแบ่งให้เป็นน้ำตาลด้วย

2. หลอดอาหาร (Esophagus) เป็นทางผ่านอาหาร ไม่มีการย่อย กลืนด้วยกล้ามเนื้อ ส่งผ่านอาหารเป็นคลื่นเรียก Peristalsis

3. กระเพาะอาหาร (Stomach) มีความจุ 3-5 ลิตร ทำหน้าที่ย่อยอาหารในขั้นต้น ให้เป็นโมเลกุลเล็กลง ผนังกระเพาะอาหารแต่ละส่วนมีหน้าที่ในการผลิตน้ำย่อย (Gastric juice) และของเหลวที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน ทำให้ภายในกระเพาะอาหารมีสภาพเป็นกรด แต่ละส่วนมีลักษณะดังนี้

3.1 ส่วนต่อกับหลอดอาหาร (Esophageal region) เป็นเยื่อชั้นเดียว ไม่มีการผลิตน้ำย่อย

3.2 ส่วนตอนกลาง (Cardiac gland region) เป็นส่วนที่มีขนาดใหญ่ที่สุด ครอบคลุมพื้นที่ส่วนใหญ่ตอนกลางของกระเพาะอาหาร ทำหน้าที่ผลิตน้ำเมือก (mucus)

3.3 ส่วนตอนล่าง (Fundic gland region) เป็นส่วนด้านล่าง ทำหน้าที่ผลิตทั้งน้ำย่อยหลายชนิด และกรดเกลือ (HCl)

3.4 ส่วนต่อกับลำไส้เล็ก (Pyloric gland region) เป็นส่วนด้านล่างติดกับลำไส้เล็ก มีพื้นที่เพียงเล็กน้อย ทำหน้าที่ผลิตน้ำย่อยหลายชนิดและ ฮอร์โมนกาสตริน (Gastrin Hormone) ซึ่งกระตุ้นการเคลื่อนไหวของกระเพาะอาหารและกระตุ้นการหลั่งของกรดเกลือ

4. ลำไส้เล็ก (Small Intestine) มีความยาวถึง 16 เมตร และมีความจุ 13 ลิตร หรือมีขนาดเท่ากับ 77.87 % ของระบบย่อยอาหารทั้งหมด ทำหน้าที่ ย่อยอาหารให้มีขนาดเล็กจนสามารถซึมผ่านผนังเส้นเลือดได้ และทำหน้าที่ดูดซึมสารอาหารมากที่สุด มี 3 ส่วน

4.1 ส่วนต้น (Duodenum)

4.2 ส่วนกลาง (Jejunum)

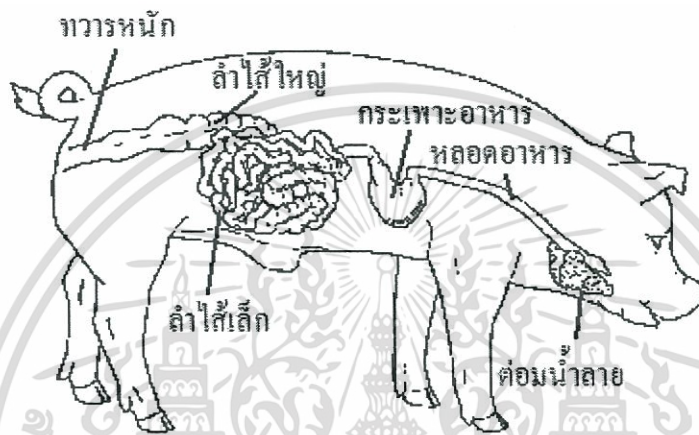
4.3 ส่วนปลาย (Ileum)

ลำไส้เล็กส่วนต้นเป็นส่วนที่มีความสำคัญมาก เพราะมีการผลิตน้ำย่อยและฮอร์โมนหลายชนิด อีกทั้งมีท่อจากจากตับอ่อน (Pancreatic Duct) นำน้ำย่อยหลายชนิดจากตับอ่อน และท่อจากถุงน้ำดี (Common Bile Duct) นำน้ำดีจากถุงน้ำดี มาย่อยอาหารในลำไส้เล็ก บริเวณนี้เรียก Diverticulum duodeni ส่วนกลางและส่วนท้ายเป็นส่วนที่มีการย่อยอาหารให้ละเอียดขึ้น และดูดซึมสารอาหารหลายชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ลำไส้ใหญ่ (Large Intestine) ต่อจากลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) ลำไส้ใหญ่ประกอบด้วย ส่วนไส้ตั้ง (Cecum) ซึ่งเป็นท่อปลายตัน ลำไส้ใหญ่ส่วนขยา (Spiral Colon) ซึ่งมีลักษณะเป็นลอน และ ลำไส้ใหญ่ส่วนปลายที่มีลักษณะแคบเล็ก (Small Colon) ทำหน้าที่ดูดซึม น้ำกลับคืนเข้าสู่ร่างกาย ไม่มีการสร้างน้ำย่อยเพื่อย่อยอาหารแต่มีการย่อยอาหารโดยจุลินทรีย์ เล็กน้อย และผลิต Vitamin B12 เล็กน้อย

6. ทวารหนัก (Anus) เป็นระบบทางเดินอาหารด่านสุดท้าย ทำหน้าที่ขับกากอาหารที่ไม่มีประโยชน์ออกนอกร่างกาย



ภาพที่ 4 ระบบทางเดินอาหารของสุกร  
ที่มา : สมชาย ศรีพูล. (2549)

#### 6. แบคทีเรียกรดแลคติกที่พบในลำไส้สุกร

แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่เป็นแกรมบวก มีลักษณะเป็นท่อนหรือกลมรี แบคทีเรียกรดแลคติกจะใช้คาร์โบไฮเดรตในการผลิตกรดแลคติก แบคทีเรียกรดแลคติกเจริญในระบบทางเดินอาหารลูกสุกรตั้งแต่ 24 ชั่วโมงแรกที่เกิด จากการที่ถูกสุกรกินนมจากแม่ (Annika *et al.* 1983) แบคทีเรียกรดแลคติกจะเจริญในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ไส้ตั้ง และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกร เป็นแบคทีเรียจำพวก *Lactobacilli*, *Streptococci* และ จุลินทรีย์อื่นๆ ซึ่งสามารถตรวจพบในอุจจาระ (Nousiainen and Setälä. 1992)

แบคทีเรียกรดแลคติกมีความทนต่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ ซึ่งเป็นกรดไฮดรอกลิกมีค่าความเป็นกรด 0.9 แต่เมื่อมีอาหารมาผสม ค่าความเป็นกรด-ด่างจะเพิ่มขึ้นเป็น 3 (Erkkilä and Petäjä, 2000) ในกระเพาะอาหารมีกรดและในลำไส้มีน้ำคิตีที่เข้มข้นสูง แต่มีแบคทีเรียบางกลุ่มสามารถเจริญได้ (Nousiainen and Setälä. 1992)

Pedersen and Tonnock. (1989) ได้ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในลำไส้สุกรส่วนต่างๆ พบว่าใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำไส้เล็กส่วน Duodenum มีประมาณ 4.7-5.6 log cfu/g ลำไส้เล็กส่วน Jejunum มีประมาณ 3.0-5.3 log cfu/g ลำไส้เล็กส่วน Ileum มีประมาณ 5.1-7.0 log cfu/g ลำไส้ใหญ่มีประมาณ 8.3-8.7 log cfu/g ลักษณะแบคทีเรียกรดแลกติกที่สำคัญในลำไส้สุกร (Salminen *et al.* 1992)

### 1. Lactobacli

แบคทีเรียจำพวก *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ลักษณะเป็นท่อนยาว *Lactobacillus* ที่เคยตรวจพบได้ในลำไส้สุกรดังตารางที่ 3 *Lactobacli* ต้องการพลังงานจากคาร์โบไฮเดรต และ คาร์บอน เป็นแหล่งในการสร้าง กรดอะมิโน และวิตามิน ในการเจริญ *Lactobacillus* ที่เป็น Homolactic จะสร้าง กรดแลกติกเท่านั้น ส่วน *Lactobacillus* ที่เป็น Heterolactic จะสร้าง กรดแลกติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ (Tonnock. 1992)

### ตารางที่ 3 *Lactobacli* ที่เคยตรวจพบในระบบทางเดินอาหารสุกร

ชนิดของ <i>Lactobacli</i>	อ้างอิง
<i>L. acidophilus</i>	Gilland <i>et al.</i> (1975) Fuller <i>et al.</i> (1978) Russell (1979) Robinson <i>et al.</i> (1984) Axelsson and Lindgren (1987) Tonnock <i>et al.</i> (1990)
<i>L. brevis</i>	Russell (1979) Tonnock. <i>et al.</i> (1990)
<i>L. crispatus</i>	Tonnock. <i>et al.</i> (1990)
<i>L. delbrueckii</i>	Russell (1979)
<i>L. leichmanii</i>	Tonnock. <i>et al.</i> (1990)
<i>L. fermentum</i>	Fuller <i>et al.</i> (1978) Tonnock <i>et al.</i> (1990)
<i>L. minutis</i>	Russell (1979)
<i>L. plantarum</i>	Russell (1979)
<i>L. reuteri</i>	Axelsson and Lindgren (1987)
<i>L. salivarius</i>	Fuller <i>et al.</i> (1978)

ที่มา : Tonnock. (1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. Streptococci

แบคทีเรียจำพวก *Streptococcus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะกลมรีเป็นคู่ หรือเป็นสายยาว เพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว มี 6 ชนิดที่เคยตรวจพบในสุกรดังตารางที่ 4 Streptococci ต้องการ กรดอะมิโน เพปไทด์ พิวรีน ไพริมิดีน และวิตามินในการเจริญ หมักคาร์โบไฮเดรตเพื่อสร้างกรดแลกติกเป็นหลัก นอกจากนี้ยังสร้างกรดอะซิติก กรดฟอรั่มิก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ (Tonnock. 1992)

ตารางที่ 4 Streptococci ที่เคยตรวจพบในระบบทางเดินอาหารสุกร

ชนิดของ Streptococci	อ้างอิง
<i>S. bovis</i>	Fuller et al. (1978)
<i>S. intestinalis</i>	Robinson et al. (1984)
<i>S. morbillorum</i>	Molitoris et al. (1986)
<i>S. salivarius</i>	Fuller et al. (1978) Russell (1979)

ที่มา : Tonnock. . (1992)

### 2.3 Enterococci

แบคทีเรียจำพวก *Enterococcus* มีลักษณะคล้าย *Streptococcus* แต่ต่างตรงที่ *Enterococcus* สามารถต้านทานต่อ โซเดียมคลอไรด์ (6.5%) แอลกอฮอล์ และด่าง (9.6) มี 3 ชนิดที่ เคยตรวจพบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ในสุกรเคยมีการตรวจพบเพียง 1 ชนิดเท่านั้นคือ *Enterococcus avium* ตรวจพบโดย Mundt ในปี 1986 (Tonnock. 1992)

## 7. ประโยชน์ของโปรไบโอติกในการป้องกันโรคในระบบทางเดินอาหาร

แบคทีเรียที่เป็น โปรไบโอติก เช่น Bifidobacteria และ Lactobacilli จะช่วยปกป้องระบบทางเดินอาหารของลูกสุกรจากแบคทีเรียก่อโรค โดยมีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียก่อโรคลดจำนวนลงได้เมื่อทำการตรวจสอบ นอกจากนี้แบคทีเรียที่เป็น โปรไบโอติกสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับยา รักษาโรคได้อีกด้วย (Shim et al. 2005) การใช้โปรไบโอติกในสุกรดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ชนิดของโปรไบโอติกที่ช่วยป้องกันโรคในทางเดินอาหารสุกร

สัตว์	โปรไบโอติก	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
ลูกสุกรแรกเกิด	<i>B. thermophilum</i>	เพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั่วไปและ	Kimura <i>et al.</i>
	<i>B. pseudolongum</i>	บรรเทาอาการท้องร่วง	(1983)
ลูกสุกรอายุ 2 วัน	<i>L. reuteri</i>	-	Ratcliffe <i>et al.</i> (1986)
ลูกสุกร	<i>Streptococci, Ent. faecum cernelle 68</i>	ลดจำนวน <i>E. coli</i> ในอุจจาระ	Deprez <i>et al.</i> (1986)
ลูกสุกรกินนม	<i>Ent. faecalis</i>	ลดจำนวน <i>E. coli</i> ในอุจจาระ	Danek (1986)
ลูกสุกร	<i>L. acidophilus</i>	<i>Lactobacilli</i> และ <i>E. coli</i> เพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อระบบทางเดิน อาหาร	Pollman <i>et al.</i> (1980b)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lactobacillus</i>	ท้องร่วงลดลง	Hale and Newton (1979)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lactobacillus</i>	ไม่มีผลต่อการตาย และอาการ ของโรคที่เกิดจาก <i>E. coli</i>	Cupere <i>et al.</i> (1992)
ลูกสุกรแรกเกิด	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i> ในอุจจาระเพิ่มขึ้น	Jonsson (1986)
ลูกสุกรกินนม	<i>Bifidobacterium globosum A</i>	จำนวนสุกรที่ท้องร่วงไม่ เปลี่ยนแปลง	Apgar <i>et al.</i> (1993)
สุกร	<i>Bacillus spp.</i>	ไม่มีผลต่อจุลินทรีย์ในลำไส้	Spriet <i>et al.</i> (1987)
ลูกสุกรกินนม	<i>Bacillus subtilis</i>	เพิ่มขึ้น ลดลง	Ozawa <i>et al.</i> (1983)
ลูกสุกรแรกเกิด	<i>Lactobacillus</i>	ลดลง ไม่มีผลต่อ <i>Lactobacillus</i>	Newman (1990)
ลูกสุกรแรกเกิด กินนม	<i>Bifidus bifidum ID</i>	บรรเทาอาการป่วย	Ervolder <i>et al.</i> (1985)

ที่มา : Shim *et al.* (2005)

## 2. เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต

โปรไบโอติกช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโตได้ เนื่องจากแบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกจะ

ช่วยการดูดน้ำและสารอาหาร เสริมสุขภาพ ทำให้อัตราการตายก่อนหย่านมลดลง ดังตารางที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ผลของโปรไบโอติกต่อการอัตราการเจริญเติบโตในสุกร

สัตว์	โปรไบโอติก	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
ลูกสุกรกินนม	<i>Lactobacillus sp.</i>	การเปลี่ยนอาหารเป็น น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น ช่วยย่อย ในโตรเจนและใยอาหาร	Hale and Newton (1979)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lb. bulgaricus</i> <i>Lb. casei</i> <i>S. thermophilus</i>	กินอาหารเพิ่มขึ้น อัตราการ เจริญเพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อ FCR	Lessard and Brisson. (1987)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lb. acidophilus</i> <i>S. faecium</i>	อัตราการเจริญและ FCR เพิ่มขึ้น	Pollman <i>et al.</i> (1980a)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lb. acidophilus</i>	อัตราการเจริญลดลง อัตราการเจริญบางครั้ง ลดลง	Harper <i>et al.</i> (1983)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lactobacillus sp.</i>	อัตราการเจริญเพิ่มขึ้น	Ogle and Inbarr (1987)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lb. reuteri</i>	อัตราการเจริญและ FCR ลดลง	Ratcliffe <i>et al.</i> (1986)
ลูกสุกรกินนม	<i>Bacillus licheniformis</i>	น้ำหนักตัวเพิ่มขึ้น	Collinder <i>et al.</i> (2000)
ลูกสุกรกินนม	<i>Bacillus licheniformis</i> <i>Bacillus toyoi</i>	อัตราการเจริญเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเพิ่มขึ้น	Kyriakis <i>et al.</i> (1999)
ลูกสุกรกินนม	<i>Bacillus</i>	อัตราการเจริญเพิ่มขึ้น	Collinder <i>et al.</i> (2000)
สุกรขุน	<i>Streptococci</i>	อัตราการเจริญและ FCR เพิ่มขึ้น	Neupert (1988)
สุกรขุน	<i>Lactobacillus sp.</i>	ไม่มีผล	Hale and Newton (1979)
สุกร	<i>Lb. acidophilus</i> <i>S. faecium</i>	ไม่มีผล	Pollman <i>et al.</i> (1980a)

ที่มา : Shim *et al.* (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 6 (ต่อ)

สัตว์	โปรไบโอติก	ผลที่เกิดขึ้น	อ้างอิง
ลูกสุกรกินนม	<i>Bacillus toyoi</i>	อัตราการเจริญและ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนเพิ่มขึ้น	Kyriakis <i>et al.</i> (1999)
ลูกสุกรกินนม	<i>Lb. acidophilus</i> and <i>S. faecium</i> or <i>Bacillus toyoi</i>	อัตราการเจริญและ ประสิทธิภาพการเปลี่ยนเพิ่มขึ้น ไม่มีผลต่อการกินเพิ่มขึ้น	Fialho <i>et al.</i> (1998)

ที่มา : Shim *et al.* (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## อุปกรณ์และวิธีการ

### 1. เชื้อจุลินทรีย์

นำลำไส้จากสุกรจำนวนทั้งหมด 8 ตัว มาทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกจากส่วนต่างๆ ของลำไส้ ได้แก่ ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) ไส้ติ่ง (cecum) และลำไส้ใหญ่ (Colon) จากนั้นนำแบคทีเรียกรดแลกติกมาทดสอบกิจกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ชนิดของเชื้อ อาหาร และอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเชื้อทดสอบดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ชนิดของเชื้อทดสอบและสภาวะที่สามารถเจริญเติบโต

Indicator strains	Media	Temperature	Condition
<b>Gram positive bacteria</b>			
<i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 14917 <sup>T</sup>	MRS	30°C	Anaerobic
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> JCM 1157 <sup>T</sup>	MRS	30°C	Anaerobic
<i>Lactobacillus sakei</i> TISTR 890	MRS	37°C	Anaerobic
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> JCM 6124 <sup>T</sup>	MRS	30°C	Anaerobic
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> TISTR 942	MRS	30°C	Anaerobic
<i>Enterococcus faecalis</i> JCM 5803 <sup>T</sup>	MRS	37°C	Anaerobic
<i>Enterococcus faecalis</i> TISTR 888	MRS	37°C	Anaerobic
<i>Lactobacillus salivarius</i> K4	MRS	37°C	Anaerobic
<i>Lactobacillus salivarius</i> K7	MRS	37°C	Anaerobic
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 <sup>T</sup>	TSB-YE	37°C	Aerobic
<i>Brochotrix campestris</i> NBRC 11547 <sup>T</sup>	TSB-YE	26°C	Aerobic
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118	TSB-YE	37°C	Aerobic
<i>Bacillus coagulans</i> TISTR 1447	TSB-YE	37°C	Aerobic
<i>Bacillus coagulans</i> JCM 2257 <sup>T</sup>	TSB-YE	37°C	Aerobic
<b>Gram negative bacteria</b>			
<i>Salmonella Typhimurium</i> TISTR 292	TSB-YE	37°C	Aerobic
<i>Escherichia coli</i> TISTR 890	TSB-YE	37°C	Aerobic
<i>Pseudomonas fluorescens</i> JCM 5963 T	TSB-YE	26°C	Aerobic
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 358	TSB-YE	26°C	Aerobic
<i>Aeromonas hydrophila</i> TISTR 1321	NB	30°C	Aerobic
<i>Streptococcus sp.</i> TISTR 1030	TSB-YE	37°C	Aerobic

ATCC = American Type Culture Collection , Rockville, Md

JCM = Japanese Culture of Microorganism ,Wako, Japan

NBRC = National Institute of Technology and Evaluation (NITE) Biological Resource Center

TISTR = Thailand Institute of Scientific and Technological Research

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 2.1 MRS (Merck, Germany)
- 2.2 TSB (Merck, Germany)
- 2.3 TSA (Merck, Germany)
- 2.4 Yeast Extract (BIO BASIC INC.)
- 2.5 Peptone (Merck, Germany) ความเข้มข้น 0.1%
- 2.6 Agar (Criterion, U.S.A.)

## 3. สารเคมี

- 3.1 CaCO<sub>3</sub> (Scharlau Chemie S.A., Spain)
- 3.2 โซเดียมคลอไรด์ (Ajax Finechem, Australia)
- 3.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Ajax Finechem, Australia)
- 3.4 กรดไฮโดรคลอริก (Merck, Germany)
- 3.5 แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
- 3.6 กัลซีเซอรอล (APS Finechem, Australia)
- 3.7 Bile salt (Sigma, Newzealand)
- 3.8 Ox-bile (Fluka, France)
- 3.9 Glucose (Ajax Finechem, Australia)

## 4. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 4.1 จานเพาะเชื้อ
- 4.2 เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์
- 4.3 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดหยาบ (Tanita model 1144, Tanita Corporation, Japan)
- 4.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด (Satorius, Basic, Germany)
- 4.5 ไมโครเวฟ (Torbola model TRX 249m, Korea)
- 4.6 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Auto clave, Tomy, Japan)
- 4.7 อ่างน้ำร้อนให้ความร้อนด้วยไฟฟ้า (Water bath, Memmert model)
- 4.8 ตู้ถ่ายเชื้อแบบ Lamina Flow (Dwyer model Mark II, USA)
- 4.9 ตู้บ่มเชื้อ (WTB Binder model BD, Germany)
- 4.10 ตู้อบเครื่องแก้ว (Hot air oven)
- 4.11 ตู้เย็น (Hitachi model RZ 2605, Thailand)
- 4.12 เครื่องผสมสาร (Vortex)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 4.13 ปิเปตทิปขนาด 20, 100 และ 1000 ไมโครลิตร
- 4.14 ที่คีบ (forcep)
- 4.15 ปิเปตอัตโนมัติ (Auto pipette) ขนาด 20, 100 และ 1000 ไมโครลิตร
- 4.16 เครื่องตีบดตัวอย่าง (Stomacher Bag Mixer 400 interscience, France)
- 4.17 Loop และ Needle
- 4.18 แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม
- 4.19 ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 4.20 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างแบบตั้งโต๊ะ (Entech Cyberscan pH 510)

## 5. สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการจุลินทรีย์เนื้อสัตว์ ศูนย์เครือข่ายการวิจัยเทคโนโลยีเนื้อสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## 6. ระยะเวลาทำการทดลอง

ระยะเวลาทำการทดลอง 1 ปี

## 7. วิธีการทดลอง

### 1. การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากลำไส้สุกร

นำตัวอย่างจากลำไส้สุกร โดยการนำเอาส่วนที่บรรจุภายในระบบทางเดินอาหาร 25 กรัม มาทำการเจือจางด้วยสารละลายเปปโตน 0.1 เปอร์เซ็นต์ ให้ได้ระดับความเจือจาง 1: 10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 และ 1:1000000 คูดตัวอย่างที่เจือจาง 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป spread plate บนอาหารแข็ง MRS ที่เติม 0.5 เปอร์เซ็นต์  $\text{CaCO}_3$  นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สภาวะที่ไม่มีอากาศ จากนั้นสุ่มเลือกโคโลนีที่มีบริเวณใส (clear zone) รอบ ๆ โคโลนี นับจำนวนเชื้อโดยเลือกจากจานเพาะเชื้อที่มีโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนี จากนั้นนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว MRS เพื่อทำเป็น stock culture โดยใส่ glycerol ความเข้มข้น 30% จากนั้นจึงนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้สำหรับในการทำการศึกษารั้งต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การคัดแยกหาแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็น โปรไบโอติก

2.1 การทดสอบความทนต่อความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของ โซเดียมคลอไรด์ (%NaCl), ความเข้มข้นของ Ox-bile (%Ox-bile) และความเข้มข้นของ Bile-salt (%Bile salt) ดัดแปลงจากการทดลองของ Gu *et al.* (2008)

1) นำเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบ 100 ไมโครลิตร มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร เชื้อละ 2 หลอด นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

2) นำเชื้อที่เลี้ยงได้มาเขย่า ดูดปริมาตร 100 ไมโครลิตร เลี้ยงในชุดอาหารที่ใช้ทดสอบ ดังนี้

- MRS broth ที่ไม่ปรับ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (control)
- MRS broth ที่ปรับ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 5, 6, 7, 8, 9 และ 10 บ่มไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3) ตรวจสอบผล โดยสังเกตการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบและบันทึกผลดังนี้

- ไม่มีตะกอนเกิดขึ้น
- + มีตะกอนขุ่นเล็กน้อย
- ++ มีตะกอนขุ่นปานกลาง
- +++ มีตะกอนขุ่นมาก

4) เลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่เจริญได้ดีในอาหารที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำมาทดสอบด้วยอาหาร MRS ที่เติม โซเดียมคลอไรด์ Ox-bile และ Bile salt ที่ระดับความเข้มข้นดังนี้

- อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เติม โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% - 8%
- อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เติม Ox-bile ความเข้มข้น 6%, 9% และ 12%
- อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เติม Bile salt ความเข้มข้น 0.9%, 1.2% และ

1.5%

5) บันทึกผลการทดสอบตามข้อที่ 2

## 3. การทดสอบความสามารถทนต่อน้ำดีสุกรสดของแบคทีเรียกรดแลกติก

3.1 วิธีการหาน้ำหนักแห้งน้ำดีสุกรสด (AOAC, 1995 อ้างโดย ศรีสกุล, 2538)

1) ชั่งขวดเข้าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบ ใส่ในโหลสุญญากาศ ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งจนได้น้ำหนักที่แน่นอน

2) ชั่งตัวอย่างน้ำดีสุกรสดที่ต้องการวิเคราะห์ (ปริมาตร 30 มิลลิลิตร) ใส่ลงในขวดที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว

3) นำขวดที่มีตัวอย่างน้ำดีสุกรสด ไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

4) นำขวดซึ่งออกจากตู้อบ ทิ้งไว้ให้เย็นในโหลสุญญากาศ เมื่อเย็นแล้วรีบนำไปชั่งน้ำหนัก

5) นำขวดกลับเข้าอบในตู้ โดยทำเช่นเดียวกับขั้นตอนที่ 1) - 4) จนกระทั่งได้น้ำหนักที่คงที่ แสดงว่าน้ำได้ระเหยออกจากตัวอย่างไปหมดแล้ว จากนั้นนำไปคำนวณ เปอร์เซ็นต์ความชื้น และเปอร์เซ็นต์วัตถุแห้ง จากสูตร

$$\% \text{ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักขวดและตัวอย่างก่อนการอบ} - \text{น้ำหนักขวดซึ่งและตัวอย่างหลังการอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์}}$$

$$\% \text{วัตถุแห้ง} = \frac{\text{น้ำหนักขวดซึ่งและตัวอย่างหลังการอบ} - \text{น้ำหนักขวดซึ่ง} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการวิเคราะห์}}$$

6) คำนวณน้ำดีสด 3 เปอร์เซ็นต์ จากสูตร

$$\text{ปริมาณน้ำดีที่ใช้} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์น้ำดีที่ใช้} \times \text{ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียม}}{\text{เปอร์เซ็นต์วัตถุแห้งของน้ำดี}}$$

3.2 วิธีการทดสอบความสามารถในการทนต่อน้ำดีสุกร คัดแปลงมาจากวิธีของ Jin *et al.* (199) โดยถ่ายเชื้อ 100 ไมโครลิตรจาก stock culture ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อเริ่มต้น โดยวิธี standard plate count ถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตร จากอาหารเหลว MRS ลงในอาหาร MRS 50 มิลลิลิตร ที่มีน้ำดีสุกรสด 3 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักแห้งต่อปริมาตร) และอาหารเหลว MRS ที่ไม่มีน้ำดีสุกร 50 มิลลิลิตร เป็นชุดควบคุม บ่มทั้ง 2 ชุด ทดลองที่ 37 องศาเซลเซียสที่ 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3, 6 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร และหาปริมาณเชื้อที่มีชีวิตด้วยวิธี standard plate count นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดี

$$\text{ค่าการทนต่อ ox-bile} = \frac{\text{ปริมาณเชื้อในอาหารที่มี ox-bile} - \text{ปริมาณเชื้อในชุดทดลองควบคุม} \times 100}{\text{ปริมาณเชื้อในชุดทดลองควบคุม}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4. การทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก

##### 4.1 ทดสอบด้วยวิธี Direct Method

1) คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีความสามารถทนต่อกรด NaCl Ox-blie Blie salt และน้ำดี คุณมาปริมาณ 100 ไมโครลิตร เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 2 มิลลิตร บ่มในตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

2) นำเชื้อแบคทีเรียทดสอบ 100 ไมโครลิตร เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียทดสอบแต่ละชนิดจะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อและบ่มที่อุณหภูมิต่างกัน โดยใช้ระยะเวลาบ่มประมาณ 24 ชั่วโมง (overnight)

3) ใช้ปลายเหล็กแหลมจุ่มเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่คัดเลือกไว้ ทิ่มลงในอาหารวุ้นแข็ง แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง

4) คุกเชื้อแบคทีเรียก่อโรคซึ่งใช้เป็นแบคทีเรียทดสอบปริมาณ 20 ไมโครลิตร และคุกเชื้อธรรมดามีปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในอาหารวุ้นที่ต้มให้ละลาย แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex เททับลงในอาหารวุ้นแข็ง (MRS agar) โดยอาหารวุ้นที่ใช้เททับจะเป็นอาหารชนิดเดียวกับที่ใช้ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบแต่ละตัว (ตารางที่ 7) จากนั้นเททับบนจานเพาะเชื้อที่มีแบคทีเรียกรดแลกติกที่เจริญบนอาหาร นำไปบ่มในอุณหภูมิที่เหมาะสมของเชื้อทดสอบแต่ละชนิด

5) ตรวจสอบผลโดยการสังเกตวงใส (Clear zone) และบันทึกผลดังนี้

- ไม่เกิดวงใส
- + เกิดวงใส

##### 4.2 ทดสอบด้วยวิธี Agar-well-diffusion

1) นำเชื้อที่คัดเลือกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง นำตัวอย่าง ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเอาเซลล์ออกจากนั้นนำส่วนใสไปทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อทดสอบ

2) ถ่ายเชื้อทดสอบปริมาณ 50 ไมโครลิตร ลงในอาหารแข็ง NA หรือ MRS ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อทดสอบ ปริมาตร 20 มิลลิตร ที่หลอมตัวที่อุณหภูมิ 45°C ผสมให้เป็นเนื้อเดียว เทลงบนจานเพาะเชื้อ รองอาหารแข็งและผิวอาหารแห้ง ใช้ cork borer เบอร์ 3 (6 มิลลิตร) เจาะอาหารให้เป็นหลุม จากนั้นหยดน้ำที่เป็นส่วนใสของเชื้อที่ปั่นเหวี่ยงแล้ว ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบการยับยั้งโดยบันทึกผลดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ไม่มีกิจกรรมการยับยั้ง
- + มีกิจกรรมการยับยั้ง

#### 5. การทดสอบลักษณะทางกายภาพ (Morphological chrateristic)

เลี้ยงเชื้อที่คัดเลือกบนอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง แล้วนำมาทดสอบดังนี้

##### 5.1 ทดสอบการติดสีแกรม

หยคน้ำกลั่นปลอดเชื้อลงบนกระจกสไลด์เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ให้กระจายบนหยคน้ำกลั่น ทิ้งให้แห้ง นำมาผ่านความร้อน (heat fixed) ย้อมด้วยสารละลาย crystal violet เป็นเวลา 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น หยดสารละลายไอโอดีน ทิ้งไว้ 1 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น จากนั้นหยด 95 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ พอทำให้สีของ crystal violet หลุดออก แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นทันที จากนั้นหยดสารละลาย safranin O ทิ้งไว้ 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่น ทิ้งให้แห้ง นำไปตรวจสอบการติดสีแกรม ลักษณะ รูปร่างเซลล์ และการจัดเรียงตัวด้วยกล้องจุลทรรศน์

##### 5.2 ทดสอบกะตะเลส

หยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนกระดาษกรองปลอดเชื้อ จากนั้นเขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงบนกระดาษกรอง ถ้าเกิดฟองอากาศ แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์กะตะเลส ส่วนโคโลนีที่ไม่เกิดฟองจะให้ผลลบ

##### 5.3 การตรวจสอบการสร้างก๊าซ

เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS broth ที่มีหลอดดักก๊าซ (durham tube) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-72 ชั่วโมง หากพบก๊าซในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative หากไม่พบก๊าซในหลอดดักก๊าซ แสดงว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative

##### 5.4 ทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ

เขี่ยเชื้อที่บริสุทธิ์ลงในอาหารเหลว MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 10, 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญ โดยดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

##### 5.5 ทดสอบความทนเกลือ

เขี่ยเชื้อที่บริสุทธิ์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2, 4, 6.5 และ 18 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญ โดยดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

##### 5.6 ทดสอบความสามารถในการเจริญที่ระดับความเป็นกรดต่างๆ

เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ลงในอาหาร MRS broth ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 และ 9.6 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง ตรวจสอบการเจริญโดยดูความขุ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 6. การจำแนกชนิดของเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธีทางชีวเคมี

ศึกษาการหมักคาร์โบไฮเดรตด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป API 50 CHL (BioMerieux, France) โดยเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์บนอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นใช้ loop ที่เผาจนแดงทำการเชยโคโลนีจำนวน 3-5 โคโลนีลงในหลอดอาหารของ API 50 CHL medium จากนั้นจึงถ่ายเชื้อใส่ลงใน API 50 CHL medium เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมชุดทดสอบลงบนถาด ถ่าย API 50 CHL medium ที่มีเชื้ออยู่ลงไปทุกช่อง ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ และอย่าให้ปลายทิวสัมผัสกับขอบช่อง ส่วนในหลุมแรกซึ่งเป็นช่อง control ให้ดูน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เมื่อดูอาหารใส่ในช่องทุกช่องแล้ว ให้เททับด้วย paraffin oil จากนั้นนำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส อ่านผลหลังจากบ่ม 24 และ 48 ชั่วโมง นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม *apiweb*<sup>TM</sup> stand alone V 1.2.1 (BioMerieux, France) โดยอ่านผลบวกจากการเปลี่ยนสีจากม่วงน้ำเงินเป็นเหลือง ยกเว้นช่องที่ 25 ซึ่งเปลี่ยนสีจากม่วงน้ำเงินเป็นดำ แสดงว่าเป็นบวก หากอาหารเปลี่ยนเป็นสีเขียวหรือไม่อ่านผลไม่ได้ชัดเจน ให้ใส่เครื่องหมาย ?

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. จำนวนแบคทีเรียกรดแลกติกในลำไส้สุกร

จากการศึกษาเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกทั้งหมดที่ได้จากลำไส้สุกร 8 ตัวโดยแบ่งออกเป็น 5 ส่วน ได้แก่ ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) ไส้ติ่ง (cecum) และลำไส้ใหญ่ (Colon) รายงานผลเป็นค่า log cfu/g ผลการทดลองพบว่า จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่พบบริเวณ ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum) ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum) ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) ไส้ติ่ง (cecum) และลำไส้ใหญ่ (Colon) มีค่า 4.94, 4.82, 3.69, 5.03 และ 5.15 log cfu/g ตามลำดับ ผลทดลองดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่พบในส่วนต่างๆของลำไส้สุกร

	จำนวนเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติก (log cfu/g)
ลำไส้เล็กส่วนต้น (Duodenum)	4.94
ลำไส้เล็กส่วนกลาง (Jejunum)	4.82
ลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum)	3.69
ไส้ติ่ง(cecum)	5.03
ลำไส้ใหญ่ (Colon)	5.15

แบคทีเรียกรดแลกติกในระบบทางเดินอาหารสุกรโดยทั่วไปจะมีจำนวนแบคทีเรียกรดแลกติก ในกระเพาะอาหารน้อยกว่า 3 log cfu/g ในลำไส้เล็กส่วนปลาย (Ileum) 2-5 log cfu/g และ ในลำไส้ใหญ่ประมาณ 4-9 log cfu/g (Erkkilä and Petäjä, 2000)

### 2. การทดสอบแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก

ทำการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของการเป็นโปรไบโอติก โดยทดสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดและทนต่อค่า pH ต่างๆ ทนต่อ NaCl ความเข้มข้น 1-8 เปอร์เซ็นต์ ทนต่อ Ox-bile ความเข้มข้น 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ และทนต่อ Bile salt ความเข้มข้น 0.9, 1.2 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองพบว่าสามารถคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก จำนวน 8 ไอโซเลท จากทั้งหมด 78 ไอโซเลท คือ D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14 โดย ไอโซเลท D8, D12, B34, C11, B1, และ I11 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH ตั้งแต่ 2 ถึง 10 ส่วนไอโซเลท B57 และ D14 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH ตั้งแต่ 3.5 ถึง 9 ทั้ง 8 ไอโซเลทยังสามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโซเดียมคลอไรด์เข้มข้น 1 ถึง 6 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยกเว้น ไอโซเลท B34 ทนได้เพียง 5 % นอกจากนี้ ไอโซเลท D8, D12, B34, C11, B1, I11 และ D14 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Ox-bile เข้มข้น 6, 9 และ 12 เปอร์เซ็นต์ได้ ยกเว้น ไอโซเลท B57 ไม่สามารถเจริญได้ ในด้านการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Bile salt เข้มข้น 0.9, 1.2 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าทั้ง 8 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้น 0.9 และ 1.2 เปอร์เซ็นต์ แต่มีเพียง ไอโซเลท D8, C11, B1 และ I11 ที่สามารถเจริญได้ที่ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงในตารางที่ 9

ความสามารถในการทนต่อกรดเป็นสมบัติที่สำคัญของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็น โปรไบโอติก (Vinderola and Reinheimer. 2003) ซึ่งค่า pH ของน้ำย่อยในกระเพาะอาจจะแตกต่างกัน ตั้งแต่ 2.0-3.5 ขึ้นอยู่กับระยะเวลาในการกินอาหาร ระยะการเจริญหรือชนิดของสัตว์ โดยพบว่าค่า pH ในกระเพาะแท้และก้นของไก่ มีค่าตั้งแต่ 2.5-4.74 และการย่อยอาหารจะใช้เวลา 1-3 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของอาหาร (Musikasang *et al.* 2009) กระเพาะอาหารของคนมีค่า pH อยู่ระหว่าง 1.0-2.5 (McDowell and Mcload. 2007) แต่อย่างไรก็ตาม Erkkilä and Petäjä (2000) รายงานว่าเมื่อมีอาหารค่า pH ในกระเพาะอาหารจะเพิ่มขึ้นถึงระดับ pH 3 และอาหารจะใช้เวลาอยู่ในกระเพาะอาหารของมนุษย์นาน 2-4 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามในการทดลองครั้งนี้พบว่า ไอโซเลท D8, C11 และ I11 สามารถมีชีวิตรอดในสภาวะดังกล่าว

Lin *et al.* (2007) ได้ทดสอบการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 2.0-3.5 สามารถทำให้จำนวนเชื้อแบคทีเรียลดลงได้ 2-3 log ในบางชนิดเนื่องจาก โปรไบโอติกต้องเดินทางผ่านระบบทางเดินอาหาร และเจริญเติบโตในระบบทางเดินอาหาร แบคทีเรียโปรไบโอติกจึงต้องสามารถทนต่อสภาวะแวดล้อมในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้ Gu *et al.* (2008) ได้ทำการทดสอบการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยใช้อาหาร MRS broth ที่ปรับค่า pH 2.0 และ 3.0 ผลปรากฏว่ามี 13 ไอโซเลทที่ทนกรดได้ 3 ชั่วโมง และมี 4 ไอโซเลท ที่สามารถทนกรดได้มากกว่า 5 ชั่วโมง

ความสามารถในการอยู่รอดภายใต้การทำงานของน้ำดีเป็นหลักการทั่วไป ที่ใช้เพื่อคัดเลือกรโปรไบโอติก เนื่องจากน้ำดีเป็นสารช่วยย่อยสลายอาหารประเภทไขมันในลำไส้เล็กของคนและสัตว์ (Taranto *et al.* 2006) น้ำดีที่ถูกหลั่งเข้าสู่ลำไส้เล็กส่วนต้นจะมีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ ในชั่วโมงแรกของการย่อยอาหาร จากนั้นความเข้มข้นจะลดลงจนถึงประมาณ 0.3 เปอร์เซ็นต์ (Noriega *et al.* 2004) ส่วนในลำไส้เล็กของไก่มีความเข้มข้นของเกลือน้ำดีประมาณ 10-11 มิลลิโมลต่อกิโลกรัมของอาหารที่กิน (Knarreborg *et al.* 2003) สัตว์ต่างชนิดกันก็จะมีองค์ประกอบของน้ำดีแตกต่างกัน เช่น ในไก่มีเกลือน้ำดี taurine conjugate เป็นองค์ประกอบ 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 9 แบบที่เรียกรวดแลกดกที่ทนต่อกรด โซเดียมคลอไรด์ Ox-bile Bile salt และ น้ำดีหนูสด

Isolates	control	pH										%NaCl							%Ox-bile					%Bile salt				
		2	2.5	3	3.5	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%			
D8	++	+	+	+	+	++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	+	+				
D12	+++	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+	+	+	+	+				
B34	+++	+	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	+	+	+	+	++	+				
C11	+++	+	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	++	+				
B1	++	+	+	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	++	+				
III	++	+	+	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	+	+	+	++	+				
B57	++	-	-	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	+	-				
D14	+	-	-	+	+	+	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	++	+	-				

หมายเหตุ ++ เจริญดีมาก

++ เจริญปานกลาง

+ เจริญน้อย

- ไม่เจริญ

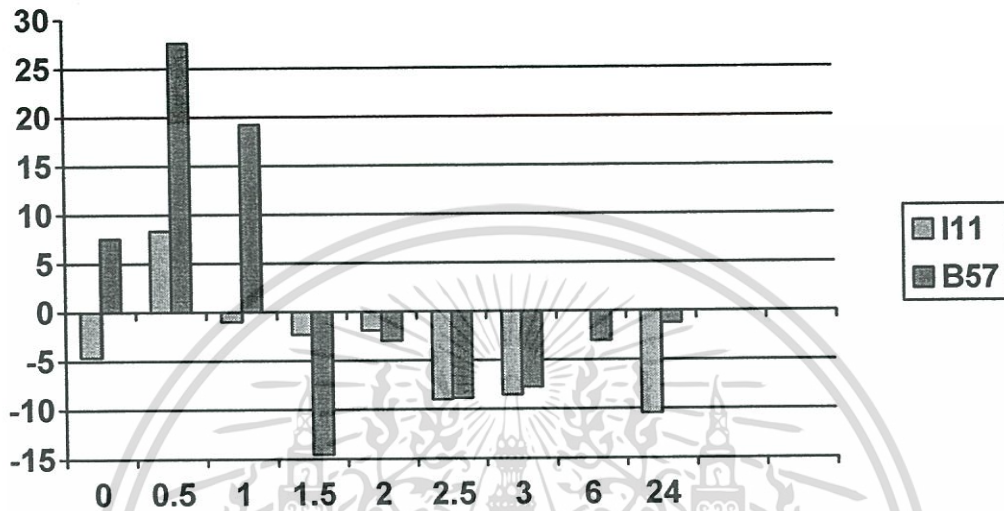
เปอร์เซ็นต์ ส่วนใน โคมีเกลือน้ำดี taurine conjugate เป็นองค์ประกอบอยู่ 50 เปอร์เซ็นต์ และในคนมีเกลือน้ำดี glycine conjugated เป็นองค์ประกอบหลัก โดยมี taurine conjugate เป็นองค์ประกอบอยู่ 16-27 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเกลือน้ำดีที่มี taurine conjugate เป็นองค์ประกอบ จะมีคุณสมบัติที่ชอบน้ำ (hydrophilic) มากกว่าเกลือน้ำดีที่มี glycine conjugated เป็นองค์ประกอบ ดังนั้นเกลือน้ำดีที่มีองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็น taurine conjugate จึงผ่านผนังเซลล์ของแบคทีเรียเข้าไปทำลายเซลล์ได้ลดลง (Oomen *et al.* 2004) ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบน้ำดีต่างชนิดกันคือ น้ำดี bile salts, ox-bile ซึ่งพบว่า ox-bile สามารถยับยั้งการเจริญของไอโซเลท D8, C11 และ I11 ได้ ในขณะที่ทั้ง 3 ไอโซเลทสามารถเจริญได้ใน bile salts ความเข้มข้นต่างๆ ที่ทำการทดสอบจากการศึกษาของ Ehrmann *et al.* (2002) ซึ่งได้ทำการทดสอบความสามารถของเชื้อ *Lb. salivarius* TMW 1.970 และ TMW 1.992 ในการทนต่อ taurocholic acid ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และ ox gall ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า taurocholic acid ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ มีผลทำให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดของเชื้อดังกล่าวลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วน ox gall ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ดังกล่าว

### 3. ความสามารถทนต่อน้ำดีสุกรสดของแบคทีเรียกรดแลกติก

จากการทดลองพบว่า ที่เวลาการสัมผัสน้ำดีสุกรสดเป็น 0.5 ชั่วโมง ไอโซเลท I11 สามารถทนต่อน้ำดีสุกรสดได้ดีที่สุด คือมีค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดีสูงถึง 8.35 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดในชุดกลุ่มควบคุมมีค่าเท่ากับ 7.08 log cfu/ml ในขณะที่จำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดในชุดกลุ่มที่มีน้ำดีสุกรสด 3% มีจำนวนเท่ากับ 7.67 log cfu/ml จากข้อมูลดังกล่าว จะเห็นได้ว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม จำนวนเชื้อที่สัมผัสกับน้ำดีสุกรสดเป็นเวลา 0.5 ชั่วโมง จะมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตเพิ่มขึ้น 0.591 log cfu/ml ส่งผลให้ที่เวลานี้ ไอโซเลท I11 มีค่าเป็นบวกคือ 8.350 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เวลาการสัมผัสน้ำดีสุกรสดอื่นๆ ที่ทำการทดสอบ จำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดในชุดทดลองจะมีค่าลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนในชุดทดลองควบคุมที่เวลาเดียวกัน ซึ่งในการทดลองครั้งนี้ เมื่อเชื้อสัมผัสน้ำดีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวนเชื้อลดลงจากกลุ่มควบคุมมากกว่าที่เวลาอื่นๆ คือ ลดลงจากกลุ่มควบคุม 0.751 log cfu/ml ที่เวลานี้เชื้อจึงมีค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดีสุกรต่ำที่สุดคือ -10.426 เปอร์เซ็นต์ ในทำนองเดียวกัน ไอโซเลท B57 มีค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดีที่เวลา 0, 0.5 และ 1 ชั่วโมง เป็นบวก คือ 7.591, 27.621 และ 19.194 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากผลดังกล่าว แสดงว่าที่เวลาการสัมผัสน้ำดีสุกรสด 0.5 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับกลุ่มควบคุมที่เวลาเดียวกันสูงที่สุด ส่วนที่เวลาการสัมผัสน้ำดีสุกรสดเป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง เชื้อที่สัมผัสน้ำดีสุกรสดมีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตลดลงมากที่สุดเมื่อเทียบกับชุดทดลองควบคุม คือ 1.157 log cfu/ml ดังนั้นที่เวลานี้เชื้อจึงมีค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดีสุกรสดต่ำที่สุด คือ -14.581 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ค่ากิจกรรมการทนต่อน้ำดีสุกรสดของไอโซเลท I11 และ B57

น้ำดีเป็นสารช่วยย่อยอาหารประเภทไขมันในลำไส้เล็กของสัตว์ มีคุณสมบัติในการทำให้อาหารไขมันแตกตัว (Piano *et al.* 2006) น้ำดีเป็นสารที่สร้างจากคลอเลสเตอรอลในตับ ถูกส่งไปเก็บไว้ที่ถุงน้ำดี และหลั่งออกมาในบริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น เมื่อมีการย่อยอาหารประเภทไขมัน น้ำดีหลั่งออกมาในลำไส้เล็กส่วนต้นของสัตว์จะมีความเข้มข้นสูง (Hyronimus *et al.* 2000)

Morelli *et al.* (2007) ได้ทดสอบความต้านทานต่อ porcine-bile ของ *L. acidophilus* และ *L. johnsonii* ซึ่ง *L. acidophilus* สามารถต้านทาน porcine-bile ได้ถึง 90%

Gu *et al.* (2008) ได้ทดสอบการทนต่อน้ำดีของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 0.3% น้ำดีสุกร เพราะเลี้ยงเป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียที่ทดสอบสามารถทนต่อน้ำดีสุกรได้ บางชนิดสามารถทนต่อน้ำดีได้ 100%

#### 4. ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

##### 4.1 ทดสอบด้วยวิธี Direct Method

แบคทีเรียกรดแลคติกที่ทดสอบความสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เป็นแบคทีเรีย

ที่คัดเลือกจากแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก 8 ไอโซเลท คือ D8, D12, B34, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการวิจัยเท่านั้น เมื่อนำมาใช้เพื่อประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

C11, B1, I11, B57 และ D14 ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบซึ่งมีทั้งแบคทีเรียทั่วไปและแบคทีเรียก่อโรค 18 ชนิด จากการทดสอบมีไอโซเลทที่มีกิจกรรมการยับยั้งได้มากกว่า 5 mm คือ D8, D12, I11, B57 และ D14 สามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ 9 ชนิดคือ *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 942, *Lactobacillus plantarum* TISTR 8014, *Enterococcus faecalis* TISTR 888, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Brochotrix campestris* NBRC 11547, *Escherichia coli* TISTR 109, *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358 และ *Pseudomonas fluorescens* TISTR 5963

โดยทั่วไปความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของแบคทีเรียกรดแลคติกมักเกิดจากการสร้างกรดอินทรีย์ ที่ส่งผลให้เกิดการลดลงของ pH (Gonzalez *et al.* 2007) โดยระดับและชนิดของกรดอินทรีย์ที่ถูกสร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก ขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก องค์ประกอบในการเลี้ยงเชื้อ และสภาวะการเจริญของเชื้อ นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกยังสามารถสร้างสารยับยั้งชนิดอื่นๆ ได้แก่ โคอะซิทิล ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคเทอริโอซิน (Lindgren and Dobrogosz. 1990)

โดยส่วนใหญ่กรดอินทรีย์จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (Makras and Vuyst. 2006) ส่วนแบคเทอริโอซินเป็น โปรตีนหรือเปปไทด์ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่มีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ที่สร้างแบคเทอริโอซิน (Leroy and De Vuyst. 1999) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ถูกสร้างขึ้นโดยแบคทีเรียกรดแลคติกภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ flavoprotein oxidases หรือ nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) peroxidase การยับยั้งแบคทีเรียโดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อาจเกิดจากการเพอร์ออกซิเดชันของไขมันที่เชื่อมซึ่งส่งผลให้เชื่อมเซลล์เกิดช่องว่างเพิ่มขึ้น (Condon. 1987)

Pilasombut *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาโดยทำการปรับค่าความเป็นกรดและด่างของสารละลายไฮโปรอสจากเซลล์ให้มีค่าประมาณ 6 ก่อนนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ ซึ่งเป็นการยืนยันได้ว่าผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบไม่ได้เกิดจากอิทธิพลของกรดอินทรีย์ จากการศึกษาพบว่าแบคเทอริโอซินที่สร้างจากเชื้อ *Lb. salivarius* K4 สามารถยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM1157<sup>T</sup>, *Lec. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124<sup>T</sup>, *E. faecalis* JCM 5803<sup>T</sup>, *B. coagulans* JCM 2257<sup>T</sup>, *Listeria innocua* ATCC 33090<sup>T</sup> และ *Brochotrix campestris* NBRC 11547<sup>T</sup> นอกจากนี้ Pilasombut *et al.* (2006)

พบว่าแบคเทอริโอซินที่สร้างจากเชื้อ *Lb. salivarius* K7 สร้างแบคเทอริโอซิน abp118β และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์ การนำออกจำหน่ายโดยไม่ได้รับอนุญาตถือว่าผิดกฎหมาย

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถยับยั้งเชื้อ *Lb. sakei* subsp. *sakei* JCM 1157<sup>T</sup>, *Leu. mesenteroides* subsp. *mesenteroides* JCM 6124<sup>T</sup> และ *B. coagulans* JCM 2257<sup>T</sup>

#### 4.2 ทดสอบด้วยวิธี Agar-well-diffusion

การทดสอบความสามารถการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของแบคทีเรียกรดแลกติก 8 ไอโซเลท คือ D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14 พบว่า ไอโซเลท D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14 สามารถแสดงการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบเพียงชนิดเดียวเท่านั้นคือ *Aeromonas hydrophila* TISTR 1321

Piano *et al.* (2006) ได้ทดสอบและพบว่าแบคทีเรียกรดแลกติกสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค (*E.coli*, *Samonella* spp., *Shigella sonnei*, และ *S. aureus*) ได้ เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลกติกจะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กรดอินทรีย์ แบคทีเรียออกซิโน ออกมายับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค

#### 5. ผลการทดสอบลักษณะทางกายภาพ (Morphological chrateristic)

การทดสอบลักษณะทางกายภาพของแบคทีเรียกรดแลกติก ทำการทดสอบแกรม การสร้างเอนไซม์อะเลส การสร้างก๊าซ ทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิ 10, 45 และ 50 องศาเซลเซียส ทดสอบการเจริญในระดับความเข้มข้นของ NaCl 2%, 4%, 6.5% และ 18% และ การเจริญในกรด (pH 4.2) เบส (pH 9.6) ดังตารางที่ 10

จากตารางที่ 10 พบว่าไอโซเลท D8, C11, B1 และ I11 ย้อมติดสีม่วงแสดงว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วน D12, B34, B57 และ D14 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไอโซเลทที่มีการสร้างก๊าซ คือ D8, C11 และ B57 รูปร่างของเซลล์มีหลายลักษณะ ไอโซเลท D8, D12 และ I11 มีลักษณะท่อนสั้น (short rod) ไอโซเลท B1 มีลักษณะเป็นท่อน (rod) ส่วน B34, C11, B57 และ D14 มีลักษณะกลม นอกจากนี้จากการทดสอบการเจริญในสภาวะต่างๆ พบว่าแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 2 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ ระดับความกรด-ด่างที่ 4.2 และ 9.6 แต่ไม่เจริญในอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ที่ 18 เปอร์เซ็นต์ Annika *et al.* 1983 กล่าวว่า แบคทีเรียกรดแลกติก มีลักษณะเป็นท่อนหรือกลม แกรมบวก สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิ 15-45 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 ลักษณะทางกายภาพของ D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14

การทดสอบ	ผลการทดสอบ							
	D8	D12	B34	C11	B1	I11	B57	D14
Gram's strain	บวก	ลบ	ลบ	บวก	บวก	บวก	ลบ	ลบ
Catalase	ลบ	ลบ	ลบ	ลบ	ลบ	ลบ	ลบ	ลบ
Gas	สร้าง	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	ไม่สร้าง	ไม่สร้าง	สร้าง	ไม่สร้าง
Morphology	Shot rod	Short rod	Cocci	Cocci	Rod	Short rod	Cocci	Cocci
Growth at 10°C	+	+	+	+	+	+	++	-
45°C	+	+	+	+	-	+	+	-
50°C	-	-	-	-	-	+	+	-
NaCl 2%	+++	+++	++	+	+	+	++	++
4%	++	+++	++	++	++	+	++	++
6.5%	+	++	+	-	+	+	+	-
18%	-	-	-	-	-	-	+	-
pH 4.2	++	++	++	++	++	++	+	+
9.6	+	++	+	++	++	++	++	++

หมายเหตุ +++ มีตะกอนขุ่นมาก

++ มีตะกอนขุ่น

+ มีตะกอนขุ่นเล็กน้อย

- ไม่เกิดตะกอน

#### 6. การจำแนกชนิดแบคทีเรียกรดแลคติกโดยวิธีทางชีวเคมี

การศึกษาทางชีวเคมีเป็นการศึกษาการหมักคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิด ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป API 50 CHL จากการทดสอบแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป จำแนกชนิดแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ไอโซเลท คือ D8, C11 และ I11

จากตารางที่ 11 หลังจากบ่มที่ 24-48 ชม ด้วยคาร์โบไฮเดรต 49 ชนิดและประมวลผลจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป พบว่า ไอโซเลท D8 จำแนกเป็น *Weissella confusa* ที่ระดับความถูกต้องของการจำแนก (% of identification) 84.8 เปอร์เซ็นต์ ไอโซเลท C11 และ I11 ถูกจำแนกเป็น *Lactobacillus acidophilus* ที่ระดับความถูกต้องในการจำแนก 92.2 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียกรดแลคติกจะเจริญในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก ลำไส้ตั้ง และลำไส้ใหญ่ของลูกสุกร เป็นแบคทีเรียจำพวก *Lactobacilli*, *Streptococci* และ จุลินทรีย์อื่นๆ ซึ่งสามารถตรวจพบในอุจจาระ (Nousiainen and Setälä. 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลกติกด้วย API 50 CHL Kit

คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบ	ไอโซเลท					
	D8		C11		I11	
	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr	24 hr	48 hr
1. control	-	-	-	-	-	-
2. Glycerol (GLY)	-	-	-	-	-	-
3. Erythritol (ERY)	-	-	-	-	-	-
4. D-arabinose (DARA)	-	-	-	-	-	-
5. L-arabinose (LARA)	?	?	-	-	-	-
6. D-ribose (RIB)	-	-	-	-	-	-
7. D-xylose (DXYL)	?	?	-	-	-	-
8. L-xylose (LXYL)	-	-	-	-	-	-
9. D-adonitol (ADO)	-	-	-	-	-	-
10. Methyl- $\beta$ D-xylopyranoside (MDX)	-	-	-	-	-	-
11. D-galactose (GAL)	?	-	+	+	+	+
12. D-glucose (GLU)	+	+	+	+	+	+
13. D-fructose (FRU)	+	+	+	+	+	+
14. D-mannose (MNE)	+	+	+	?	+	+
15. L-sorbose (SBE)	-	-	-	-	-	-
16. L-rhamnose (RHA)	-	-	-	-	-	-
17. Dulcitol (DUL)	-	-	-	-	-	-
18. Inositol (INO)	-	-	-	-	-	-
19. D-mannitol (MAN)	-	-	?	?	-	-
20. D-sorbitol (SOR)	-	-	-	-	-	-
21. Methyl- $\alpha$ D-manopyranoside (MDM)	-	-	-	-	-	-
22. Methyl- $\alpha$ D-glucopyranoside (MDG)	-	-	-	-	-	-
23. N-acetylglusamine (NAG)	?	?	+	+	+	+
24. Amygdalin (AMY)	?	?	-	-	+	+

หมายเหตุ + เกิดการหมัก ? เกิดการหมักไม่สมบูรณ์ - ไม่มีการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 (ต่อ) การจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลกติกด้วย API 50 CHL Kit

คาร์โบไฮเดรตที่ใช้ทดสอบ	ไอโซเลท					
	D8		C11		I11	
	24 hr	24 hr	24 hr	24 hr	24 hr	24 hr
25. Arbutin (ARB)	?	?	-	-	+	+
26. Esculin ferric citrate (ESC)	+	+	+	+	+	+
27. Salicin (SAL)	?	?	?	-	+	+
28. D-cellobiose (CEL)	+	+	?	-	+	+
29. D-maltose (MAL)	+	+	+	+	+	+
30. D-lactose (boving) LAC	-	-	-	-	+	+
31. D-melibiose (MEL)	-	-	+	?	-	-
32. D-saccharose (SAC)	+	+	+	+	+	+
33. D-trcharose (TRE)	-	-	-	-	+	+
34. Inurin (INU)	-	-	-	-	-	-
35. D-melezitose (MLZ)	-	-	-	-	-	-
36. D-raffinose (RAF)	-	-	+	+	+	+
37. Amidon (AMD) starch	-	-	-	-	-	-
38. Glycogen (GLYG)	-	-	-	-	-	-
39. Xylitol (XLT)	-	-	-	-	-	-
40. Gentiobiose (GEN)	?	?	-	-	+	+
41. D-turanose (TUR)	-	-	-	-	+	?
42. D-lyxose (LYX)	-	-	-	-	-	-
43. D-tagarose (TAG)	-	-	-	-	-	-
44. D-fucose (DFUC)	-	-	-	-	-	-
45. L-flucose (LFUC)	-	-	-	-	-	-
46. D-arabitol (DARL)	-	-	-	-	-	-
47. L-arabitol (LARL)	-	-	-	-	-	-
48. Potassium gluconate (GNT)	?	?	-	-	-	-
49. Potassium 2-ketogluconate (2KG)	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + เกิดการหมัก ? เกิดการหมักไม่สมบูรณ์ - ไม่มีการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สรุปผลการทดลอง

จากการทดสอบแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากลำไส้สุกร ได้คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่สามารถทนต่อกรด เกลือ น้ำดี ซึ่งมีองค์ประกอบเหมือนกันกับในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกที่จะนำมาเป็นโปรไบโอติกที่ดีจึงต้องมีความสามารถในการอยู่รอดในสภาวะต่าง ๆ นี้ ได้อีกทั้งต้องสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้อีกด้วย จึงได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกมา 8 ไอโซเลท คือ D8, D12, B34, C11, B1, I11, B57 และ D14 ทำการทดสอบความสามารถทนต่อกรด เกลือ น้ำดี พบว่าสามารถทนต่อกรดที่มีค่า pH 2 ขึ้นไป ทนต่อความเข้มข้นของเกลือ 1-6 เปอร์เซ็นต์ ทนต่อน้ำดีสุกรได้ 30 นาที ในไอโซเลท I11 และ 60 นาที ในไอโซเลท B57 นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ทั้งเชื้อแบคทีเรียปกติ และเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรค ซึ่งไอโซเลท D8, D12, I11, B57 และ D14 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ คือ *Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* JCM 1157, *Leuconostoc mesenteroides* TISTR 942, *Lactobacillus plantarum* TISTR 8014, *Enterococcus faecalis* TISTR 888, *Staphylococcus aureus* TISTR 118, *Brochothrix campestris* NBRC 11547, *Escherichia coli* TISTR 109, *Pseudomonas fluorescens* TISTR 358, *Pseudomonas fluorescens* TISTR 5963 และ *Listeria innocua* ATCC 33090 ถึงแม้ว่าไม่ทุกชนิด แต่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ ซึ่งแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเหล่านี้เป็นคุณสมบัติเบื้องต้นเป็นโปรไบโอติก จึงควรทำการศึกษาต่อไปในความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์หรือนำสารแบคทีเรียโอซินไปใช้ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- ประไพพรรณ สิริพิบูล. 2552. การผลิตสุกร. [Online] Available : <http://courseware.rmutl.ac.th/courses/110/unit000.html> (23/03/2554)
- สมชาย ศรีพุด. 2549. หลักการเลี้ยงสัตว์. [Online] Available : <http://www.nsruc.ac.th/e-learning/animals/index.php> (23/03/2554)
- สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- เสาวนีย์ ธรรมสถิตติ. 2547. แบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ : เซลล์และผลิตภัณฑ์ของเซลล์. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ศรีสกุล วรจันทร์. 2538. ปฏิบัติการโภชนศาสตร์สัตว์. กรุงเทพฯ : คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบัน เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- อัจฉรา เพิ่ม. 2550. แบคทีเรียแลคติก. พิมพ์ครั้งที่ 1. สงขลา : คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.
- Ammor, M.S. and Mayo, B. 2007. "Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update." *Meat Sci.* 76 : 138-146.
- Annika, M.M., Manninen, M. and Gyllenberg, H. 1983. "The adherence of lactic acid bacteria to the columnar epithelial cells of pigs and calves." *J. Appl. Bacteriol.* 55 : 241-245.
- Bover-Cid, S. and Holzappel, W.H. 1999. "Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria." *Int. J. Food Microbiol.* 53 : 33-41.
- Burton, J.P., Wescombe, P.A., Moore, C.J., Chilcott, C.N. and Tagg, J.R. 2006. "Safety Assessment of the Oral Cavity Probiotic *Streptococcus salivarius* K12." *Appl. Envir. Microbiol.* 72(4) : 3050-3053.
- Commane, D., Hughes, R., Shortt, C. and Rowland, I. 2005. "The potential mechanisms involved in the anti-carcinogenic action of probiotics." *Mutat. Res.* 591 : 276-289.
- Condon, S. 1987. "Responses of lactic acid bacteria to oxygen." *FEMS Microbiol. Lett.* 46 : 269-280.
- Dunne, C., O'Mahony, L., Murphy, L., Thornton, G., Morrissey, D., O'Halloran, S., Feeney, M., Flynn, S., Fitzgerald, G., Daly C., Kiely, B., O'Sullivan, G.C., Shanahan, F. and Collins J.K. 2001. "In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin : correlation with in vivo findings." *Am. J. Clin. Nutr.* 73 : 386S-392S.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Ehrmann, M.A., Kurzak, P., Bauer, J. And Vogel, R.F. 2002. "Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry." **J. Appl. Microbiol.** 92 : 966-975.
- Erkkilä, S. and Petäjä, E. 2000. "Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use." **Meat Sci.** 55 : 297-300.
- Fadda, S., Vignolo, G. and Oliver, G. 2001. "Tyramine degradation and tyramine/histamine production by lactic acid bacteria and Kocuria strains." **Biotechnol. Lett.** (Abstract).
- Fernández, M.F., Boris, S. and Barbés, C. 2003. "Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract." **J. Appl. Microbiol.** 94 : 449-445.
- González, L., Sandoval, H., Sacristán, N., Castro, J.M., Fresno, J.M. and Tornadijo, M.E. 2007. "Identification of lactic acid bacteria isolated from Genestoso cheese throughout ripening and study of their antimicrobial activity." **Food Contr.** 18 : 716-722.
- Gu, R.X., Yang, Z.Q., Li, Z.H., Chen, S.L. and Luo, Z. L. 2008. "Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from stool samples of longevous people in regions of Hotan, Xinjiang and Bama, Guangxi, China." **Anaerobe.** 14 : 313-317.
- Hirayama, K. and Rafter, J. 2000. "The role of probiotic bacteria in cancer prevention." **Microbes Infect.** 2 : 681-686.
- Hyrominus, B., Marrec, C.L., Sassi, A.H. and Deschamps, A. 2000. "Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria." **Int. J. Microbiol.** 61 : 193-197.
- Jin, L.Z., Ho, Y.W., Adullah, N., Ali, M.A. and Jalaludin. 1996. "Antagonistic effects of intestinal *Lactobacillus* isolates on pathogens of chicken." **Lett. Appl. Microbiol.** 23 : 67-71.
- Kimoto-Nira, H., Mizumachi, K., Nomura, M., Kobayashi, M., Fujita, Y., Okamoto, T., Suzuki, I., Tsuji, N.M., Kurisaik, J. and Ohmomo, S. 2007. "REVIEW *Lactococcus* sp. As Potential Probiotic Lactic Acid Bacteria." **JARQ.** 41 : 181-189.
- Knarreborg, A., Jensen, S.K. and Engberg, R.M. 2003. "Pancreatic lipase activity as influenced by unconjugated bile acids and pH, measured in vitro and in vivo." **J. Nutr. Biochem.** 14 : 259-265.
- Kolodjieva, V., Yafaev, R., Yermolenko, E. and Suvorov, A. 2006. "Incidence of virulence determinants in enterococcal strains of probiotic and clinical origin." **Int. Congress Series.** 1298 : 367-369.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิพนธ์ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Laissue, J.A., Chappuis, B.B., Müller, C., Reubi, J.C. and Gebbers, J.O. 1993. "The intestinal immune system and its relation to disease." **Digest. Dis.** (Abstract).
- Leroy, F. and De Vuyst, L. 1999. "The presence of salt and a curing agent reduces bacteriocin production by *Lactobacillus sakei* CTC 494, a potential starter culture for sausage fermentation." **Appl. Environ. Microbiol.** 65(12) : 5350-5356.
- Leroy, F. and De Vuyst, L. 2004. "Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry." **Trends in Food Sci. Technol.** 15 : 67-78.
- Lin, W.H., Yu, B., Jang, S.H. and Tsen, H.Y. 2007. "Different probiotic properties for *Lactobacillus fermentum* stains isolated from swine and poultry." **Anaerobe.** 13 : 107-113.
- Lindgren, S.E. and Dobrogosz, W.J. 1990. "Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations." **FEMS Microbiol. Rev.** 87 : 149-163.
- Liong, M.T. and Shah, N.P. 2005. "Bile salt deconjugation ability, bile salt hydrolase activity and cholesterol co-precipitation ability of lactobacilli strains." **Int. Dairy J.** 15 : 391-398.
- Madara, J.L. 1997. "Imunology : The chameleon within: Improving antigen." **J. Sci.** 277 : 910-911.
- Magalhaes, J.G., Tattoli, I. and Girardin, S.E. 2007. "The intestinal epithelial barrier: How to distinguish between the microbial flora and pathogens." **Semin. Immunol.** 19 : 106-115.
- Makras, L. and Vuyst, L.D. 2006. "The in vitro inhibition of Gram-negative pathogenic bacteria by bifidobacteria is caused by the production of organic acids." **Int. Dairy J.** 16 : 1049-1057.
- McDowell, A. and McLeod, B.J. 2007. "Physiology and pharmacology of the brush tail possum gastrointestinal tract: Relationship to the human gastrointestinal tract." **Adv. Drug Deliv. Rev.** 59 : 1121-1132.
- Morelli, L. 2007. "In vitro assessment of probiotic bacteria : From survival to functionality." **Int. Dairy J.** 17 : 1278-1283.
- Musikasang, H., Tani, A., H-kittikun, A. and Maneerat, S. 2009. "Probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from chicken gastrointestinal digestive tract." **World J. Microbiol. Biotechnol.** 25 : 1337-1345.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Noriega, L., Gueimonde, M., Sanchez, B., Margolles, A. and Reyes-Gavilan, C.G. 2004. "Effect of the adaptation to high bile salts concentrations on glycosidic activity, survival at low pH and cross-resistance to bile salts in *Bifidobacterium*." **Int. J. Food Microbiol.** 92 : 79-86.
- Nousiainen, J. and Setälä, J. 1992. **Lactic Acid Bacteria as Animal Probiotics.** pp. 315-318. In S. Salminen and A. von Wright (eds.). Lactic Acid Bacteria. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Oomen, A.G., Rompelberg, C.J.M., Van de Kamp, E., Pereboom, D.P.K.H., De Zwart, L.L. and Sips, A.J.A.M. 2004. "Effect of bile type on the bioaccessibility of soil contaminants in an *in vitro* digestion model." **Arch. Environ. Contam. Toxicol.** 46 : 183-188.
- Otero, M.C. and Nader-Macias, M.E. 2006. "Inhibition of *Staphylococcus aureus* by H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-producing *Lactobacillus gasseri* isolated from the vaginal tract of cattle." **Anim. Reprod. Sci.** 96 : 35-46.
- Pedersen, K. and Tonnock, G.W. 1989. "Colonization of Porcine gastrointestinal tract by Lactobacilli." **Appl. Environ. Microbiol.** P. 279-283.
- Piano, M.D., Morelli, L., Strozzi, GP., Allesina, S., Barba, M., Deidda, F., Lorenzini, P., Ballaré, M., Montino, F., Orsello, M., Sartori, M., Garelo, E., Carmagnola, S., Pagliarulo, M. and Capurso, L. 2006. "Probiotics : from research to consumer." **Digest. Liver dis.** 2 : S248-S255.
- Pilasombut, K., Wajjwalku, W., Nitisinprasert, S., Swetwivathana, A., Zendo, T., Nakayama, J., Sonomoto, K. and Sakpuaram, T. 2005. "Screening and characterization of bacteriocin producing lactic acid bacteria isolated from chicken intestine." **Kasetsart J. (Nat. Sci.)** (39) : 612-621.
- Rinkinen, M., Weatermarck, E., Salminen, S. and Ouwehand, A.C. 2003. "Absence of host specificity for *in vitro* adhesion of probiotic lactic acid bacteria to intestinal mucus." **Vet. Microbiol.** 97 : 55-61.
- Slover, C.M. 2008. "*Lactobacillus* : a review." **Clin. Microbiol. Newsletter.** 30 : 23-27.
- Succi, M., Tremonte, P., Reale, A., Sorrentino, E., Grazia, L., Pacifico, S. and Coppola, R. 2005. "Bile salt and acid tolerance of *Lactobacillus rhamnosus* strains isolated from Parmigiano Reggiano cheese." **FEMS Microbiol. Lett.** 244 : 129-137.
- Suzzi, G. and Gardini, F. 2003. "Biogenic amines in dry fermented sausages: a review." **Int. J. Food Microbiol.** 88 : 41-54.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Swetwivathana, A., Leutz, U., Lotong, N. and Fischer, A. 1999. "Controlling the growth of *Salmonella* Anatum in nham; Effect of meat starter cultures, nitrate, nitrite and garlic." **Fleischwirtschaft**. 79(9) : 124-128.
- Taranto, M.P., Perez-Martinez, G. and de Valdez, G.F. 2006. "Effect of bile acid on the cell membrane functionality of lactic acid bacteria for oral administration." **Res. Microbiol.** 157 : 720-725.
- Tonnock, G.W. 1992. "The Lactic Microflora of Pig, Mice and Rats." pp. 21-42. **In** B. Wood (eds). **The Lactic Acid Bacteria**. ELSEVIER APPLIED SCIENCE London and New York.
- Vasiljevic, T. and Shah, N.P. 2008. "Review Probiotics-From Metchnikoff to bioactives." **Int. Dairy J.** 18 : 714-728.
- Vinderola, C.G. and Reinheimer, J.A. 2003. "Lactic acid starter and probiotic bacteria : a comparative "In Vitro" study of probiotic characteristics and biological barrier resistance." **Food Res. Int.** 36 : 895-904.
- Yeonhee, L. 2005. "Characterization of *Weissella kimchii* PL9023 as a potential probiotic for women." **FEMS Microbiol. Lett.** (Abstract).
- Zárate, G., Chaia, A.P., González, S. and Oliver, G. 2000. "Viability and  $\beta$ -galactosidase activity of dairy propionibacteria subjected to digestion by artificial gastric and intestinal fluids." **J. Food Prot.** 63(9) : 1214-1221.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. MRS broth

MRS broth	52.2 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที	

## หมายเหตุ

อาหารเหลว MRS ที่มี pH เป็นกรด เตรียมโดยใช้ 1M HCl ปรับ pH ของอาหารเหลว MRS เป็น 2, 2.5, 3 และ 3.5

อาหารเหลว MRS ที่มีน้ำตาลซูคร 3 % เตรียมโดยใช้น้ำดีซูครสดซึ่งทำการหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นแล้วมาผสมในอาหารเหลว MRS

อาหารเหลว MRS ที่มี ox-bile เตรียมโดยใช้ ox-bile ผสมลงในอาหารเหลว MRS 3% 6%, 9% และ 12% แล้วปรับ pH เป็น 8 ด้วย 5M NaOH

## 2. MRS agar

MRS broth	52.2 กรัม
Agar	1.5%
CaCO <sub>3</sub>	0.5%
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที	

## 3. Peptone

Peptone	1 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร
นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที	

## 4. TSB-YE broth

Tryptic soy broth	30 กรัม
Yeast extract	ร้อยละ 0.6
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5. TSB-YE agar

Tryptic soy broth	30 กรัม
Yeast extract	ร้อยละ 0.6
Agar	ร้อยละ 1.5
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที



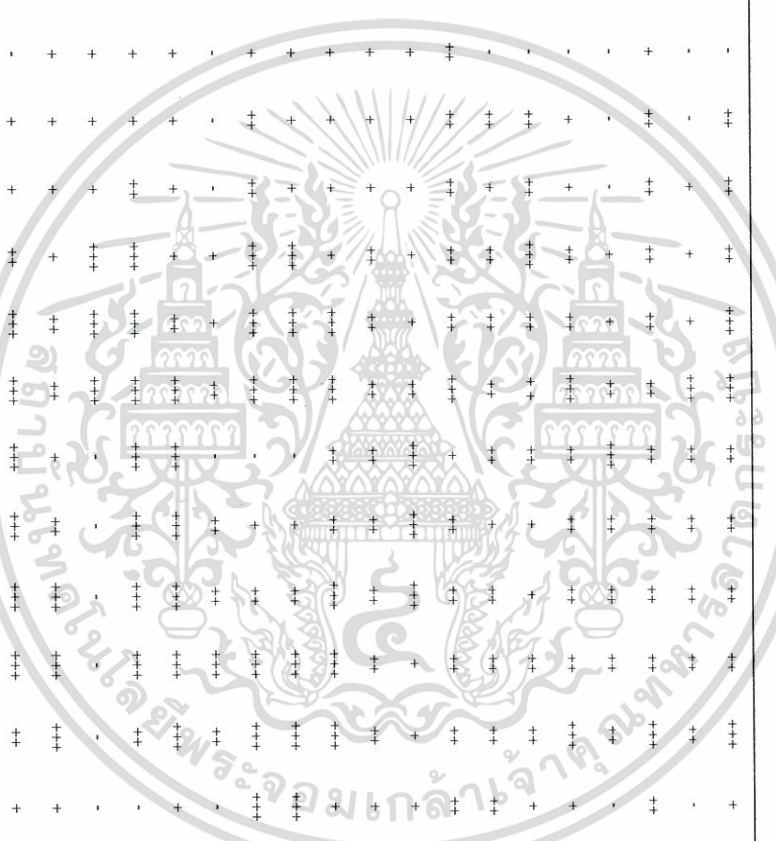
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงผลการทดสอบชนิดที่เป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติก

Isolates	control	pH													%NaCl					%Ox-bile					%Bile salt		
		2	2.5	3	3.5	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%		
D1	+	-	-	-	+	+++	++	++	++	++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	-	++	++	++	0	0	0	0		
D2	+	-	-	-	+	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	+++	+++	+++	0	0	0	0	
C1	+++	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	0	0	0	0	
C2	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	0	0	0	0	
C3	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	0	0	0	0	
C4	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	0	0	0	0	
C5	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	0	0	0	0	
C6	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	0	0	0	0	
C7	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	0	0	0	0	
C8	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	0	0	0	0	
C9	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	0	0	0	0	
C11	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	0	0	0	0	
C12	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	0	0	0	0	
B1	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+	0	0	0	0	
B2	+++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	0	0	0	0	
D3	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	++	++	++	++	
D5	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
D6	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	++	++	++	++	
D7	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	++	++	++	++	
D8	++	+	+	+	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	++	++	++	++	
D9	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	+	+	+	+	
D10	++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0	0	0	-	-	-	-	



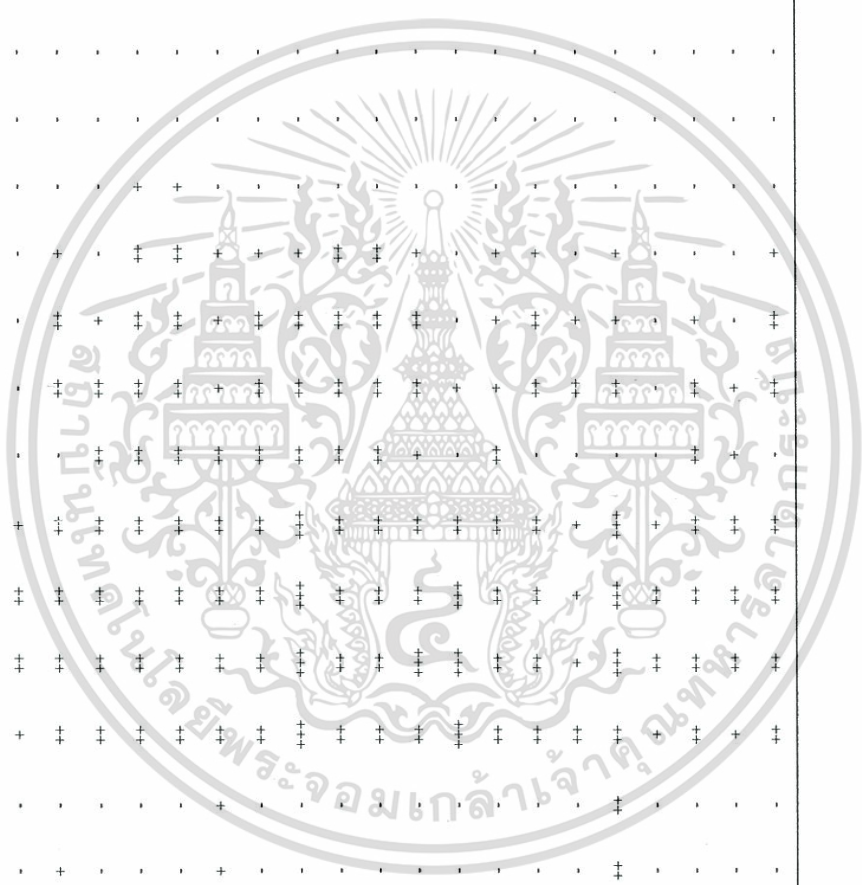
ตารางภาพผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงผลการทดสอบสมบัติเบื้องต้นที่เป็นไปของแบคทีเรียกรดแลคติก

Isolates	control	pH																	%NaCl							%Ox-bile							%Bile salt		
		2	2.5	3	3.5	4	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%									
D11	+++	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+								
D12	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
D13	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I3	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I4	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I11	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
B32	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
B28	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+							
B29	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
D14	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I2	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I5	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I6	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I7	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I8	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I9	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I10	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
I13	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
C14	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
C16	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
B34	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							
B35	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในการเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ทำไปประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาพผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงผลการทดสอบชนิดที่เป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติก

Isolates	control	pH															%NaCl					%Ox-bile					%Bile salt		
		2	2.5	3	3.5	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%				
B30	+	-	-	-	-	++	+	+	+	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	0	0	0	0				
B31	+++	-	-	+	++	++	+++	+++	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	+	0	0	0	0			
B33	++	-	-	-	-	+	++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	0	0	0	0			
B36	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			
B37	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	0	0	0	0			
C18	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			
C19	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	0	0	0	0			
C20	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	0	0	0	0			
C21	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			
C22	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+	0	0	0	0			
C23	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			
C26	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			
C28	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+	0	0	0	0			
B49	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	-	0	0	0	0			
B50	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	0	0	0	0			
B51	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	0	0	0	0			
B52	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	0	0	0	0			
B53	+++	-	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++	-	-	-	-	-	-	-	-	+++	+++	+	0	0	0	0			
B55	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	0	0	0	0			
D16	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	0	0	0	0			
D17	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	0	0	0	0			
J58	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	+	0	0	0	0			

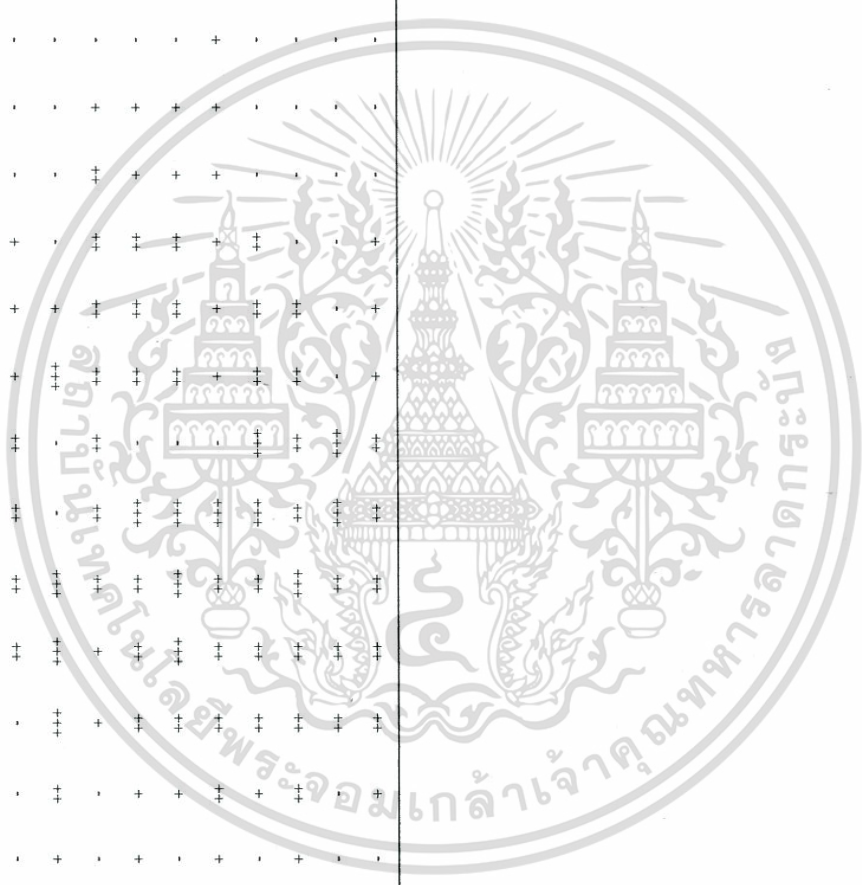


ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาพผนวกที่ 1 (ต่อ) แสดงผลการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นที่เป็นไปโรคของแบคทีเรียกรดแลคติก

Isolates	control	pH										%NaCl						%Ox-bile						%Bile salt		
		2	2.5	3	3.5	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%	
B45	++	-	-	-	-	++	++	++	+	-	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	0	0	0	0	
B46	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	+	0	0	0	0
D18	++	-	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	-	0	0	0	0
D19	+++	-	-	-	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	-	0	0	0	0
D21	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0
B57	++	-	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	-	+	+	-	-
B58	+++	-	-	-	+	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	+++	+++	+++	-	0	0	0	0
B59	++	-	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	+	0	0	0	0
B62	++	-	-	-	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	-	0	0	0	0
B63	++	-	-	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	-	0	0	0	0
B64	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	-	0	0	0	0
B65	++	-	-	-	-	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	-	-	++	++	++	+	0	0	0	0

หมายเหตุ +++ เจริญดีมาก  
 ++ เจริญปานกลาง  
 + เจริญน้อย  
 - ไม่เจริญ  
 0 ไม่ได้ทดลอง



ตารางภาคผนวกที่ 2 เบคทีเรียกรดแลคติกที่เจริญได้ดีในสภาวะเป็นกรด เกิด Ox-bile Bile salt และ น้ำดีหยุด

Isolates	control	pH										%NaCl					%Ox-bile					%Bile salt			
		2	2.5	3	3.5	4	5	6	7	8	9	10	1%	2%	3%	5%	6%	7%	8%	6%	9%	12%	0.9%	1.2%	1.5%
C8	+++	+	+	+	++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+	+++	++	+	0	0	0
C10	+++	+	+	+	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+	+	+	+++	+	+	+	+	+++	++	+	0	0	0
C11	+++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+	+	+	++	++	+	++	+	+
B1	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
B13	+++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	0	0
D12	+++	+	+	+	+	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	0	0	0
I11	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B32	++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	++	++	-
B28	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
D14	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
B31	+++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
C20	++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
B53	+++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
B59	++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
D8	++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
B57	++	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
C2	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0
C3	+++	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0

หมายเหตุ +++ เจริญดีมาก  
 ++ เจริญปานกลาง  
 + เจริญน้อย  
 - ไม่เจริญ

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการทดสอบความทนต่อน้ำดีสีกรของไอโซเลท I11

Isoletes	เวลา (ชม.)	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีชีวิตรอด (Log CFU/ml)						ค่ากิจกรรมการทน ต่อน้ำดี
		ชุดทดลองควบคุม			ชุดทดลองน้ำดีสีกร 3%			
		1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	
I11	0	7.690	7.579	7.634	7.230	7.342	7.286	-4.559
	0.5	7.041	7.114	7.078	7.613	7.724	7.669	8.350
	1	7.114	7.623	7.369	7.362	7.230	7.296	-0.991
	1.5	6.602	6.778	6.690	6.602	6.477	6.539	-2.257
	2	6.699	6.602	6.651	6.477	7.079	6.778	-1.925
	2.5	7.431	7.462	7.447	6.778	-	6.778	-8.983
	3	7.398	7.041	7.220	6.602	6.602	6.602	-8.559
	6	7.919	7.881	7.900	-	-	-	-
	24	7.176	7.230	7.203	6.301	6.602	6.452	-10.426

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการทดสอบความทนต่อน้ำดีสีกรของไอโซเลท B57

Isoletes	เวลา (ชม.)	จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีชีวิตรอด (Log CFU/ml)						ค่ากิจกรรมการทน ต่อน้ำดี
		ชุดทดลองควบคุม			ชุดทดลองน้ำดีสีกร 3%			
		1	2	เฉลี่ย	1	2	เฉลี่ย	
B57	0	6.301	6.477	6.389	6.903	6.845	6.874	7.591
	0.5	6.000	6.477	6.238	7.959	7.963	7.961	27.621
	1	6.301	6.954	6.627	7.919	7.881	7.899	19.194
	1.5	7.908	7.963	7.935	6.778	6.778	6.778	-14.581
	2	7.716	7.755	7.735	7.690	7.322	7.506	-2.961
	2.5	7.653	7.414	7.583	6.778	6.954	6.866	-8.854
	3	8.029	8.418	8.220	7.740	7.431	7.585	-7.725
	6	6.477	6.698	6.587	6.301	6.477	6.389	-3.006
	24	7.146	7.544	7.345	7.301	7.204	7.252	-1.266

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ค่าดูดกลืนแสงไอโซเลท I11 และ B57 ในการทดสอบการทนต่อน้ำดีสุกรสด

เวลา (ชั่วโมง)	Isolates					
	I11			B57		
	เริ่มต้น	control	น้ำดีสด	เริ่มต้น	control	น้ำดีสด
0	1.783	0.0155	0.3585	2.427	0.0570	0.2260
0.5		0.0194	0.4196		0.2570	0.2404
1		0.0233	0.4255		0.0020	0.2551
1.5		0.0291	0.4574		0.1007	0.3208
2		0.0479	0.4633		0.1250	0.3485
2.5		0.0671	0.4707		0.0731	0.3662
3		0.0999	0.4840		0.1003	0.3758
6		0.8042	0.5241		0.8234	0.4320
24		1.8850	0.0415		2.5380	4.0900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Direct Method ครั้งที่ 1

Indicator strain	Isolates										
	D8	D12	B34	C11	B1	I11	B57	D14			
<i>Lactobacillus sakei</i> TISTR 890	-	-	-	-	-	+	+	+			
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> JCM 1157 <sup>T</sup>	+	++	-	-	-	+	+	++			
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> JCM 6124 <sup>T</sup>	-	-	-	-	-	+	+	+			
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TISTR 942	++	-	-	-	-	+	+	++			
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> TISTR 1344	++	-	-	-	-	++	++	++			
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 8014	+++	-	-	-	-	++	++	+			
<i>Enterococcus faecalis</i> TISTR 888	++	++	-	-	-	++	++	++			
<i>Enterococcus faecalis</i> JCM 5803 <sup>T</sup>	-	++	-	-	-	-	-	-			
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118	++	++	-	-	-	++	++	++			
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 <sup>T</sup>	-	++	-	++	+	-	-	-			
<i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 292	++	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Brochothrix campestris</i> NBRC 11547 <sup>T</sup>	++	-	-	-	-	++	++	++			
<i>Bacillus coagulans</i> TISTR 1447	-	++	-	-	-	-	-	-			
<i>Streptococcus</i> sp. TISTR 1030	++	++	-	-	-	-	-	-			
<i>Escherichia coli</i> TISTR 109	+++	++	+++	++	++	++	++	++			
<i>Aeromonas hydrophila</i> TISTR 1321	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 358	+	++	-	-	-	+	+	++			
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 5963	++	++	-	-	-	+	+	++			

หมายเหตุ +++ หมายถึง ยับยั้งได้กว้างกว่า 10 mm

++ หมายถึง ยับยั้งได้ระหว่าง 5-10 mm

+ หมายถึง ยับยั้งได้น้อยกว่า 5 mm

- หมายถึง ไม่มีการยับยั้ง

ตารางภาคผนวก ที่ 7 ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบ ด้วยวิธี Direct Method ครั้งที่ 2

Indicator strain	Isolates										
	D8	D12	B34	C11	B1	I11	B57	D14			
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> JCM 1157 <sup>T</sup>	+	+	-	-	-	+	+	+			
<i>Leiconostoc mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i> JCM 6124 <sup>T</sup>	+	+	-	-	-	+	+	+			
<i>Leiconostoc mesenteroides</i> 942	+	-	-	-	-	+	+	+			
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> TISTR 1344	+	-	-	-	-	+	+	+			
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 8014	++	+	-	-	-	++	++	++			
<i>Enterococcus faecalis</i> TISTR 888	++	+	-	-	-	+	+	+			
<i>Enterococcus faecalis</i> JCM 5803 <sup>T</sup>	++	+	-	-	-	+	+	+			
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118	+++	+++	+	++	-	++	++	+++			
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 <sup>T</sup>	+	+	-	-	+	++	++	+++			
<i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 292	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Brochoirix campestris</i> NBRC 11547 <sup>T</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Bacillus coagulans</i> TISTR 1447	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Streptococcus</i> sp. TISTR 1030	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Escherichia coli</i> TISTR 109	++	++	+	++	+	++	++	++			
<i>Aeromonas hydrophila</i> TISTR 1321	-	-	-	-	-	-	-	-			
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 358	++	+	-	-	-	++	++	++			
<i>Pseudomonas fluorescens</i> TISTR 5963	+	+	-	-	-	++	++	++			

หมายเหตุ +++ หมายถึง ขยับยั้งได้กว้างกว่า 10 mm

++ หมายถึง ขยับยั้งได้ระหว่าง 5-10 mm

+ หมายถึง ขยับยั้งได้น้อยกว่า 5 mm

- หมายถึง ไม่มีการขยับยั้ง

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียทดสอบของแบคทีเรียกรดแลคติกด้วยวิธี Agar-well-diffusion

Indicator strain	Isolates										
	D8	D12	B34	C11	B1	I11	B57	D14			
<i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> JCM 1157 <sup>T</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus sakei</i> TISTR 890	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> TISTR 942	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> TISTR 1344	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 8014	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Enterococcus faecalis</i> TISTR 888	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> TISTR 118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Listeria innocua</i> ATCC 33090 <sup>T</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Salmonella typhimurium</i> TISTR 292	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Brochoatrix campestris</i> NBRC 11547 <sup>T</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Bacillus coagulans</i> TISTR 1447	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Streptococcus sp.</i> TISTR 1030	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Escherichia coli</i> TISTR 109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i> TISTR 1321	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	+

หมายเหตุ + หมายถึง มีการยับยั้ง

- หมายถึง ไม่มีการยับยั้ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้