รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ความปลอดภัยของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองหั่นชิ้นบนพื้นฐานการตรวจด้วยไบโอนาโนเซ็นเซอร์

Development of safety analysis techniques for fresh-cut Mango fruits cv. Nam Dok Mai Sri Tong based on bio/nano sensor platform

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ฉายประสาท และคณะ

โครงการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2554

สัญญาเลขที่ R2554B809

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การพัฒนาเทคนิคการวิเคราะห์ความปลอดภัยของมะม่วงน้ำดอกไม้สีทองหั่นชิ้นบนพื้นฐานการตรวจด้วยไบโอนาโนเซ็นเซอร์

Development of safety analysis techniques for fresh-cut Mango fruits cv. Nam Dok Mai Sri Tong based on bio/nano sensor platform

คณะผู้วิจัย

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พีระศักดิ์ ฉายประสาท สังกัดมหาวิทยาลัยนเรศวร

2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์ สังกัดจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดยงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยประจำปี 2554 จนผลการวิจัยในโครงการนี้ประสบความสำเร็จไปได้ด้วยดี

คณะผู้วิจัย

บทคัดย่อ

การตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในมะม่วงหั่นชิ้นเป็นการควบคุมความเสี่ยงในการบริโภคอาหารที่อาจก่อให้เกิดโรคต่อระบบทางเดินอาหาร การศึกษานี้เป็นการใช้เทคนิค LAMP ในการเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย ร่วมกับการเรืองแสงกับสารเชื่อมต่อ กระบวนการทดสอบแบ่งออกได้ เป็น 2 ระยะ คือ ระยะแรก คือ การเตรียม DNA ให้พร้อมสำหรับการเพิ่มปริมาณโดยไม่มีการสกัด DNA ระยะที่ 2 การเพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมาย คือ *mal* B gene ที่ 65^{o}C การตรวจสอบว่ามี DNA เป้าหมายหรือไม่โดยการสังเกตเห็นการเรืองแสง ข้อจำกัดของการตรวจสอบสามารถทำได้ 5% ของ E.coli DNA ต่อมะม่วงหั่นชิ้น 50 กรัม และไม่พบการตรวจสอบเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในอาหารอื่น การตรวจสอบสามารถทำได้ภายใน 4 ชั่วโมง โดยใช้วิธีที่ไม่ต้องใช้ PCR การตรวจสอบนี้เป็นวิธีที่ง่าย เหมาะสมกับการดำเนินงานในสภาพแปลงปลูก

Abstract

Development of safety analysis techniques for fresh-cut Mango fruits cv. Nam Dok Mai Sri Tong based on bionanosenser platform. This detection cam be used for risks control of pathogenic microorganisms that cause disease outbreaks. A repaid method detection of Escherichia coli. For fresh-cut mango fruits based on 100p-meduated isothermal DNA amplification with fluorescence signal detection upon binding of target DNA product with fluorescence binder. Detection procedure were carried out in two steps. The first step was an enrichment step that used fresh cut mango to enable DNA amplification without any sample pretreatment as full step DNA extraction. The second was a specific DNA amplification of the *mol* B gene at 65 $^{\circ}$c isothermal temperature and DNA signal detection. The DNA signal was measured using visual fluorescence chemical. The limit of detection in this method was 5 copies of E. coli DNA per 50 g of fresh-cut mango fruits. No fluorescence visualization or no signal was obserbed from contaminated sample with other pathogenic microorganism. The detection could be completed within 4 hrs of all steps and visaulied detection. This development was based on a rapid and simple detection of pathogenic bacteria (E.coli) and suitable for field application.

สารบัญ

เรื่อง	**หน้า**
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	7
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	17
บทที่ 4 ผลการทดลอง	19
บทที่ 5 วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง	24
เอกสารอ้างอิง	26