

| | | | |
|---------------|---|------------|-----------------|
| ชื่อเรื่อง | คุณสมบัติและคุณลักษณะของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์ | | |
| ผู้จัดทำ | นายรุ่งโรจน์ ศรีรักษา | | |
| ปริญญา | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต | สาขาวิชา | เทคโนโลยีชีวภาพ |
| กรรมการควบคุม | ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศิริรัตน์ ดิษฐ์ธรรม | | |
| | รองศาสตราจารย์ ดร. อนุชิตา มุ่งงาม | | |
| มหาวิทยาลัย | มหาวิทยาลัยมหาสารคาม | ปีที่พิมพ์ | 2556 |

บทคัดย่อ

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมที่มีการหมักเพื่อผลิตกรดและแอลกอฮอล์ กรดในนมชนิดนี้เป็นกรด แอซิติก และกรดแลคติก แบคทีเรียโอซินเป็นโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติกมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นได้ แบคทีเรียโอซินเป็นที่ยอมรับให้ใช้ในอาหารเพราะปลอดภัยต่อผู้บริโภค และสามารถยืดอายุผลิตภัณฑ์อาหาร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากหัวเชื้อคีเฟอร์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และคุณลักษณะของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์ จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์ โดยใช้วิธี swab-paper disk พบว่าเพอร์ทั้ง 5 ชนิด คือ Kefir DA 500 I, Kefir DC 500 I, kefir DG 500 I, DT 500 I และ Kefir BT 1 สามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรีย แกรมบวก และแกรมลบได้บางชนิดได้แก่ *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* และ *Staphylococcus aureus* ผลการทดสอบคุณสมบัติของส่วนใสปราศจากเซลล์ ของเชื้อคีเฟอร์พบว่า มีความสามารถในการทนต่อความร้อนที่ ระดับอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที ซึ่งแบคทีเรียโอซินยังคงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* แต่แบคทีเรียโอซินไม่สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 20-30 นาทีและที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาทีได้ แบคทีเรียโอซินของ Kefir DT 500 I มีความเสถียรที่ pH 2.0 ถึง 10 แต่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้มากที่สุดเมื่ออยู่ในสภาวะ pH ที่ 5, 6 และ 7 จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างแบคทีเรียโอซินของ Kefir DT 500 I พบว่าในระยะลอกเฟส ใช้เวลา 6 ชั่วโมงยังไม่มีการผลิตแบคทีเรียโอซินในช่วงนี้ เชื้อจะเริ่มผลิตแบคทีเรียโอซินในระยะลอกเฟสซึ่งตรวจพบในชั่วโมงที่ 10 มีกิจกรรมของแบคทีเรียโอซินเท่ากับ 160 AU/มิลลิลิตร และพบว่าเชื้อมีการผลิตแบคทีเรียโอซินได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 18 ซึ่งมีกิจกรรมของแบคทีเรียโอซินเท่ากับ 240 AU/มิลลิลิตร และจากการศึกษาการทำให้ แบคทีเรียโอซินบริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต และใช้คอลัมน์ sephadex G-50 และการวิเคราะห์หาน้ำหนักของแบคทีเรียโอซินโดยใช้ โซเดียมโดดีซิลซัลเฟต โพลีอะครีลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟเรซิส พบว่าแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อ Kefir DT 500 I มีน้ำหนักโมเลกุล 2.5 กิโลดาลตัน

คำสำคัญ: แบคทีเรียโอซิน, คีเฟอร์, ส่วนใสปราศจากเซลล์

TITLE Properties and Characteristics of Bacteriocin produced by Kefir grain
AUTHOR Mr. Rungroj Sriraksa
DEGREE Master of Science **MAJOR** Biotechnology
ADVISORS Assistant Professor. Dr. Sirirat Deeseenthum, Ph.d.
 Association Professor. Dr. Anuchita Mungngam, Ph.d.
UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2013

Abstract

Kefir is an acidic and mildly alcoholic fermented dairy product that is believed to have functional properties. Bacteriocin is protein produced by lactic acid bacteria that have antibacterial activity. Bacteriocin have attracted much interest are safe for human consumption and can be used for inter preservation of food product. This research aims to study the properties and characteristics of bacteriocin produced by Kefir grain. The antimicrobial activities of five kefirs (Kefir DA 500 I, Kefir DC 500 I, Kefir DG 500 I, Kefir DT 500 I and Kefir BT 1) were investigated by swab paper disk method. This bacteriocin had broad range of antibacterial activity against some members of gram positive and gram negative pathogenic bacteria e.g. *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. The propertie of the cell free supernatant of the kefir was stable at pH 2 to 10 but provided the high bacterial inhibition activity at pH 5, 6 and 7. In addition, bacteriocin was also stable at 100°C for 10 minutes. On the other hand, bacteriocin was sensitive to high temperature (100 °C for 20-30 minutes and 121°C for 15 minutes). Production of bacteriocin after 10 hours of fermentation in MRS broth at 37°C was found to be 160 AU/ml and after 18 hours there was increase in production rate to 240 AU/ml. The bacteriocins were purified by ammonium sulphate precipitation and ion exchange chromatography (Sephadex gel G-50). Molecular weight of bacteriocins produced by bacteria was analyzed using Sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide-gel electrophoresis (SDS-PAGE). Biochemically they were pure protein moiety and the molecular weight was 2.5 kDa (Kefir DT 500 I)

Keyword: Bacteriocins, Kefir, Cell free supernatant