

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพประกอบ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการและเหตุผล	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 สมมุติฐานของการวิจัย	2
1.4 ความสำคัญของการวิจัย	2
1.5 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
บทที่ 2 ปรีทัศน์เอกสารข้อมูล	4
2.1 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	4
2.1.1 ลักษณะของคีเฟอร์ (Kefir)	4
2.1.2 ลักษณะเม็ดคีเฟอร์	4
2.1.3 ประโยชน์ของนมคีเฟอร์	4
2.2 อนุกรมวิธานของแบคทีเรียกลุ่มแลคติก	5
2.2.1 สารยับยั้งที่ได้จากแบคทีเรียกรดแลคติก	8
2.2.2 ประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแลคติก	8
2.3 สารต้านจุลชีพ (Antimicrobial agent)	9
2.3.1 การจำแนกประเภทของสารต้านจุลชีพ	9
2.4 แบคทีเรียโอซิน (Bacteriocins)	10
2.4.1 การจัดแบ่งประเภทของแบคทีเรียโอซิน (Classification of bacteriocin)	12
2.4.2 รูปแบบการทำลายเซลล์แบคทีเรียเป้าหมายของแบคทีเรียโอซิน	13
2.4.3 กลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียโอซิน	13
2.4.4 ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการผลิตแบคทีเรียโอซิน	14
2.4.5 การนำแบคทีเรียโอซินไปใช้ในการปรับปรุงความปลอดภัยในอาหาร	16
2.4.6 การเติมแบคทีเรียโอซินในรูปของส่วนผสมในอาหาร	16
2.4.7 การเติมสายพันธุ์ที่สร้างแบคทีเรียโอซินลงในอาหาร	17
2.5 การแยกและทำโปรตีนให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคเจลฟิวเตรชันโครมาโตกราฟี	18
2.6 การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสาร	19
2.7 จุลินทรีย์ก่อโรค	20

	หน้า
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
2.8 งานวิจัยในประเทศ	26
2.8 งานวิจัยต่างประเทศ	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	29
3.1 วัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือในการวิจัย	29
3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย	30
3.3 แผนการทดลอง	34
3.4 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล	35
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปราย	36
4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์	36
4.2 การศึกษาคูณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์	40
4.3 การทำให้แบคทีเรียโอซินบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคเจลฟิวเตรชันโครมาโตกราฟี	55
บทที่ 5 สรุปผล และข้อเสนอแนะ	58
5.1 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์	58
5.2 การศึกษาคูณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์	58
5.3 การทำให้แบคทีเรียโอซินบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคเจลฟิวเตรชันโครมาโตกราฟี	59
5.4 ข้อเสนอแนะ	59
เอกสารอ้างอิง	60
ภาคผนวก	66
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้วิเคราะห์	67
ภาคผนวก ข วิธีการคำนวณค่า Bacteriocin activity ในหน่วย Arbitrary units (AU/ml)	70
ภาคผนวก ค ภาพประกอบผลวิจัย	72
ภาคผนวก ง ตารางภาคผนวก	79
ประวัติย่อผู้วิจัย	86

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 2.1 การเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างแบคทีเรียโอซินและสารปฏิชีวน	11
ตาราง 2.2 ตัวอย่างของ Support material	18
ตาราง 3.1 การเตรียม McFarlands Standards	31
ตาราง 4.1 บริเวณที่มีการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยเชื้อคีเฟอร์ และยาปฏิชีวนะ ที่ 24 ชั่วโมง	36
ตาราง 4.2 บริเวณที่มีการยับยั้งเชื้อก่อโรคโดยหัวเชื้อคีเฟอร์ และยาปฏิชีวนะ ที่ 48 ชั่วโมง	38
ตาราง 4.3 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DA 500 I ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	41
ตาราง 4.4 พื้นที่ยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DC 500 I ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	42
ตาราง 4.5 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DG 500 I ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	43
ตาราง 4.6 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DT 500 I ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	44
ตาราง 4.7 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 1 ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	45
ตาราง 4.8 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DA 500 I ที่ pH ต่างกัน	47
ตาราง 4.9 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DC 500 I ที่ pH ต่างกัน	48
ตาราง 4.10 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DG 500 I ที่ pH ต่างกัน	49
ตาราง 4.11 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DT 500 I ที่ pH ต่างกัน	50
ตาราง 4.12 บริเวณยับยั้งของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 1 ที่ pH ต่างกัน	51
ตาราง ๓.1 การเจริญของเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ในช่วงเวลาต่าง ๆ	80
ตาราง ๓.2 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างแบคทีเรียโอซินของเชื้อ Kefir DT 500 I	80
ตาราง ๓.3 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานทางสถิติของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 24 ชั่วโมง	81
ตาราง ๓.4 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานเป็นแบบสุ่มของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 24 ชั่วโมง	81
ตาราง ๓.5 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานเป็นอนุพันธ์ของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 24 ชั่วโมง	82
ตาราง ๓.6 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานทางสถิติของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 48 ชั่วโมง	82
ตาราง ๓.7 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานเป็นแบบสุ่มของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 48 ชั่วโมง	83
ตาราง ๓.8 การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานเป็นอนุพันธ์ของเชื้อคีเฟอร์ที่ยับยั้งเชื้อก่อโรคใน 48 ชั่วโมง	83
ตาราง ๓.9 การวิเคราะห์เปรียบเทียบเป็นรายคู่ของเชื้อคีเฟอร์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ 24 ชั่วโมง	84
ตาราง ๓.10 การวิเคราะห์เปรียบเทียบเป็นรายคู่ของเชื้อคีเฟอร์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ 48 ชั่วโมง	84

สารบัญภาพประกอบ

	หน้า
ภาพประกอบ 2.1 โครงสร้างของ nisin	11
ภาพประกอบ 2.2 <i>Bacillus subtilis</i> ติดสีม่วงของคริสตันไวโอเล็ต	21
ภาพประกอบ 2.3 <i>Escherichia coli</i> ติดสีแดงของซาฟานินโอ	22
ภาพประกอบ 2.4 <i>Pseudomonas fluorescens</i> ติดสีแดงของซาฟานินโอ	25
ภาพประกอบ 2.5 <i>Staphylococcus aureus</i> ติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเล็ต	26
ภาพประกอบ 4.1 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของเชื้อคีเฟอร์ และยาปฏิชีวนะ	37
ภาพประกอบ 4.2 บริเวณการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> และ <i>P. fluorescens</i> ของเชื้อคีเฟอร์ ทั้ง 5 ชนิด	46
ภาพประกอบ 4.3 บริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ของเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ที่ pH ต่างกัน	52
ภาพประกอบ 4.4 การเจริญของเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ในช่วงเวลาต่าง ๆ	54
ภาพประกอบ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการผลิตแบคทีเรียโอซินของเชื้อ Kefir DT 500 I	54
ภาพประกอบ 4.6 ค่า OD ₂₈₀ นาโนเมตร ของ fraction แต่ละส่วนที่เก็บได้จากการทำให้ แบคทีเรียโอซิน บริสุทธิ์ โดยใช้คอลัมน์ Sephadex gel G-50	55
ภาพประกอบ 4.7 การทำ SDS-PAG ของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir DT 500 I	56
ภาพประกอบ ค.1 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ Kefir DA 500 I และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar	73
ภาพประกอบ ค.2 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของ Kefir DC 500 I และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar	74
ภาพประกอบ ค.3 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของเชื้อ Kefir DG 500 I และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar	74
ภาพประกอบ ค.4 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของเชื้อ Kefir DT 500 I และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar	75
ภาพประกอบ ค.5 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของเชื้อ Kefir BT 5 และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจาน อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar	75
ภาพประกอบ ค.6 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> และ <i>B. subtilis</i> ของเชื้อคีเฟอร์ ทั้ง 5 ชนิด ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที	76
ภาพประกอบ ค.7 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> และ <i>P. fluorescens</i> ของเชื้อคีเฟอร์ ทั้ง 5 ชนิด	77

ภาพประกอบ ค.8 แสดงบริเวณการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ของเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด
ที่ pH ต่างกัน