

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการและเหตุผล

ในปัจจุบันผู้บริโภคหันมาให้ความสำคัญกับสุขภาพและมีแนวโน้มในการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมากขึ้น โพรไบโอติกหรือจุลินทรีย์สุขภาพเป็นทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากประโยชน์ที่จะได้รับเป็นอย่างมากมายต่อร่างกาย (สุญาณี พงษ์ธนาภิกร, 2549) โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ถูกใช้ในมนุษย์และสัตว์ มีผลให้ร่างกายดีขึ้นโดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ประจำถิ่นภายในร่างกายส่วนมากเกิดที่ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์จุลินทรีย์ที่ถูกใช้เป็นโพรไบโอติกส่วนใหญ่ คือ แบคทีเรียกรดแลคติก เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ศึกษากันมานานแล้วว่าไม่ก่อให้เกิดโรค สามารถยึดครองและอยู่รอดในบริเวณทางเดินอาหารได้เป็นอย่างดี (Khow-ean, 2006) ประโยชน์ของโพรไบโอติกที่มีต่อร่างกายมนุษย์มีหลายประการ เช่น กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคโดยการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างหรือผลิตสารแบคทีริโอซิน เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์, 2556) ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติกในปัจจุบันมีมากมายหลายประเภท รวมถึงอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์เศรษฐกิจ อาทิเช่น ใช้โพรไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น กุ้ง (องอาจ เลหาวิณี, 2545) กลายเป็นธุรกิจที่มีอัตราการเติบโตสูงขึ้น เนื่องจากผลการตอบรับจากผู้บริโภค โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีผู้นิยมบริโภคกันมากผู้ผลิตจึงมีความพยายามที่จะเพิ่มศักยภาพของผลิตภัณฑ์ให้มีประโยชน์แก่ผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความสามารถผลิตแบคทีริโอซินเป็นหนทางหนึ่ง ซึ่งนอกจากผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จากสารอาหารในนมแล้ว ยังช่วยป้องกันโรคจากจุลินทรีย์ก่อโรคได้อีกด้วย

แบคทีริโอซินเป็นสารประกอบประเภทโปรตีนที่ผลิตโดยแบคทีเรีย และมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น โดยส่วนใหญ่ถูกผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติก สารชนิดนี้เป็นที่สนใจอย่างมากในด้านการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นสารที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดได้อย่างจำเพาะและผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่ถือว่ามีความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) (Parada *et al.*, 2007) ซึ่งมนุษย์ได้นำมาใช้ประโยชน์เป็นเวลายาวนาน จึงมีการนำแบคทีริโอซินมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแทนการใช้สารเคมีเพื่อประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรคได้ แบคทีริโอซินชนิดแรกๆที่นำมาใช้ในการถนอมอาหารและยอมรับว่าปลอดภัย คือ ไนซิน (nisin) ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus lactis* ซึ่งช่วยแก้ปัญหาการใส่สารปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภทได้ (Klaenhammer, 1988) แม้ว่าจะมีการศึกษาและพบแบคทีเรียกรดแลคติกหลายชนิดที่สามารถผลิตแบคทีริโอซินได้ แต่แบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดก็ไม่สามารถนำไปใส่ในอาหารได้โดยตรง และแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดมีการต้านทานต่อแบคทีริโอซิน ดังเช่นการดื้อต่อสารปฏิชีวนะทั่วไป ดังนั้นจึงมีผู้ศึกษาถึงการผลิต แบคทีริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกกันมากขึ้นตลอดเวลา เพื่อคัดเลือกเชื้อที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์และนอกจากนี้ยังเพื่อศึกษากลไกการยับยั้งเชื้อก่อโรคอีกด้วย

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากหัวเชื้อคีเฟอร์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค และศึกษาหาหน้ากโมเลกุลของแบคทีเรียโอซินที่แยกได้ เพื่อนำข้อมูลดังกล่าวไปพัฒนาในด้านอุตสาหกรรมอาหารหรือทางการแพทย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์
- 1.2.2 ศึกษาคุณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์
- 1.2.3 เพื่อแยกแบคทีเรียโอซินให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟี

1.3 สมมติฐานของการวิจัย

- 1.3.1 คีเฟอร์สามารถผลิตสารแบคทีเรียโอซินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้
- 1.3.2 เชื้อแบคทีเรียต่างชนิดกันสามารถยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ต่างกัน

1.4 ความสำคัญของงานวิจัย

ผลการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาในด้านอุตสาหกรรมอาหารเพื่อลดการใช้ยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีในการควบคุมจุลินทรีย์ในอาหาร และสามารถนำคีเฟอร์ไปใช้ทางการแพทย์และป้องกันหรือช่วยให้ผู้ป่วยมีสุขภาพดีต่อไป

1.5 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติและการทำให้บริสุทธิ์ของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์ โดยกำหนดขอบเขตไว้ดังนี้

1.5.1 ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* ของหัวเชื้อคีเฟอร์ด้วยวิธี Swab paper disk diffusion

ตัวแปรต้น คือ หัวเชื้อคีเฟอร์

ตัวแปรตาม คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) ที่ยับยั้งเชื้อทดสอบ

1.5.2 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญ และการสร้างแบคทีเรียโอซินของหัวเชื้อคีเฟอร์

1.5.3 ศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยคีเฟอร์

1.5.3.1 ผลของความร้อนที่มีต่อแบคทีเรียโอซิน

ตัวแปรต้น คือ อุณหภูมิและเวลา

ตัวแปรตาม คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) ที่ยับยั้ง
เชื้อทดสอบ

1.5.3.2 ผลของพีเอช (pH) ที่มีต่อแบคทีเรียโอซิน

ตัวแปรต้น คือ พีเอชที่ต่างกัน

ตัวแปรตาม คือ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Clear zone) ที่ยับยั้ง
เชื้อทดสอบ

1.5.4 เพื่อแยกแบคทีเรียโอซินให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคเจลฟิลเตรชันโครมาโตกราฟีและหา
น้ำหนักโมเลกุลหรือขนาดของแบคทีเรียโอซินด้วย Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide
gel electrophoresis (SDS-PAGE)

1.5.5 ระยะเวลาทำการวิจัย

เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2553 ถึงเดือนกันยายน 2555

1.5.6 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 คีเฟอร์ (Kefir) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับหัว
เชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า คีเฟอร์เกรน (Kefir grain) ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแลคติกแบคทีเรียและยีสต์
ที่ยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ มีการอยู่
ร่วมกันของกล้าเชื้อในคีเฟอร์เป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน (Symbiotic)

1.6.2 แบคทีเรียโอซิน (Bacteriocin) สารปฏิชีวนะโปรตีน ต่างจากยาปฏิชีวนะทั่ว ๆ ไป ไม่มี
ผลตกค้าง ไม่มีผลต่อยา เพราะเป็นสารประกอบในกลุ่มโปรตีนชนิดหนึ่ง จึงเรียกเป็นสารปฏิชีวนะ
โปรตีน ผลิตได้จากแบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียแลคติก