

## บทที่ 5

### สรุปผล และข้อเสนอแนะ

#### 5.1 ผลการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์

แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ที่ 24 ชั่วโมง แต่หลังจากวัดบริเวณโซนยับยั้งที่ บ่มเชื้อไว้ที่ 48 ชั่วโมง พบว่าเชื้อคีเฟอร์มีบริเวณโซนยับยั้งลดลง ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียโอซินสามารถ ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ที่ 24 ชั่วโมง

#### 5.2. การศึกษาคุณสมบัติบางประการของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยหัวเชื้อคีเฟอร์

##### 5.2.1. ความสามารถในการทนต่อความร้อน

ผลการทดสอบคุณสมบัติของ Cell free supernatant ของเชื้อคีเฟอร์พบว่า ความสามารถในการทนต่อความร้อนของ Cell free supernatant สามารถทนความร้อนได้สูงถึงระดับ ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งแบคทีเรียโอซินยังสามารถยับยั้งการเจริญ ของเชื้อแบคทีเรียคือ *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* แต่แบคทีเรียโอซินไม่ สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20-30 นาที และที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

##### 5.2.2. ความสามารถในการทนต่อ pH ที่ต่างกัน

ในการศึกษาผลของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อคีเฟอร์ในการยับยั้งการเจริญต่อเชื้อ ทดสอบ *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* โดยวิธี swab-paper disk พบว่า แบคทีเรียโอซินสามารถยับยั้งการเจริญสามารถยับยั้งการเจริญต่อเชื้อทดสอบได้ หลังจากปรับ pH ตั้งแต่ 2 ถึง 10 แต่ไม่พบสามารถยับยั้งการเจริญต่อเชื้อทดสอบ หลังจากปรับสภาวะ pH ที่ 11 และ 12 การที่เชื้อคีเฟอร์ไม่สามารถทนต่อค่า pH ที่สูงทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อคีเฟอร์เป็นแบคทีเรียที่ชอบกรด หรือ เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแลคติกแบคทีเรีย ผลการทดสอบแบคทีเรียโอซินที่มีความสามารถในการทนต่อ pH ที่ต่างกันที่ผลิตจากเชื้อคีเฟอร์ ทั้ง 5 ชนิดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพบว่าในสภาวะที่ค่า pH ที่ 5, 6 และ 7 สามารถยับยั้งเชื้อทดสอบได้มากที่สุด คือ 7 และ 8 มิลลิเมตร

##### 5.2.3. การหาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญ และการสร้างแบคทีเรียโอซินของหัวเชื้อ คีเฟอร์

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างแบคทีเรียโอซินของ แบคทีเรียโอซินของเชื้อ Kefir DT 500I พบว่าจะใช้เวลาประมาณ 6 ชั่วโมง ในระยะ lag phase ซึ่งยังไม่มีการผลิตแบคทีเรียโอซินในช่วงนี้ เชื้อจะเริ่มผลิตแบคทีเรียโอซินในระยะ logarithmic phase ซึ่ง ตรวจพบในชั่วโมงที่ 10 มีกิจกรรมของแบคทีเรียโอซินเท่ากับ 160 AU/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่า O.D เท่ากับ 0.946 และพบว่าเชื้อมีการผลิตแบคทีเรียโอซินได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 18 ซึ่งมีกิจกรรมของแบคทีเรียโอซิน

เท่ากับ 240 AU/มิลลิลิตร และยังคงมีกิจกรรมการยับยั้งจนถึงชั่วโมงที่ 24 ซึ่งพบว่ามีค่า O.D เท่ากับ 3.653 ในชั่วโมงที่ 24

### 5.3 การทำให้แบคทีเรียโอสินบริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคเจลฟิเตรชันโครมาโตกราฟี

จากการทำให้แบคทีเรียโอสินบริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วย แอมโมเนียมซัลเฟต และใช้เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแลกเปลี่ยนประจุ โดยใช้คอลัมน์ Sheppardex gel G-50 หลังจากนั้นนำไปล้างด้วยบัฟเฟอร์ แล้วนำโปรตีนที่ได้ไหลลงในคอลัมน์ เลือก fraction ละ 5 มิลลิลิตร ได้ทั้งหมด 10 fraction โดยปรับอัตราการไหลเท่ากับ 30 มิลลิลิตรต่อชั่วโมง นำ fraction ที่ได้ไปหาค่าน้ำหนักโมเลกุลของแบคทีเรียโอสิน พบว่าแบคทีเรียโอสินที่ผลิตจากเชื้อ Kefir DT 500 I มีน้ำหนักโมเลกุล 2.5 กิโลดาลตัน

### 5.4 ข้อเสนอแนะ

5.4.1 เชื้อคีเฟอร์เมื่อเลี้ยงในนมจะสามารถเจริญได้ดี เพราะในนมมีน้ำตาลแลคโตส ที่เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญของเชื้อคีเฟอร์

5.4.2 การจะนำคีเฟอร์ไปใช้ควรบ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม และปรับความเป็นกรด-ด่างให้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อเพื่อเชื้อคีเฟอร์จะได้มีประสิทธิภาพอย่างเต็มที่

5.4.3 หัวเชื้อคีเฟอร์เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว MRS พบว่าหัวเชื้อไม่เหนียวและจับกลุ่มเป็นก้อนเหมือนกับที่เลี้ยงในนมซึ่งหัวเชื้อคีเฟอร์จะจับตัวเป็นกลุ่มคล้ายดอกกระท่อปี