

## ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและคุณสมบัติการทนความร้อนของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากคีเฟอร์

รุ่งโรจน์ ศรีรักษา<sup>1</sup>, ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม<sup>2</sup>, อนุชิตา มุ่งงาม<sup>3</sup>, เกษศิรินทร์ ศักดิ์วิวัฒน์กุล<sup>4</sup>

### บทคัดย่อ

#### ฤทธิ์การยับยั้งแบคทีเรียและคุณสมบัติการทนความร้อนของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากคีเฟอร์

รุ่งโรจน์ ศรีรักษา<sup>1</sup>, ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม<sup>2</sup>, อนุชิตา มุ่งงาม<sup>3</sup>, เกษศิรินทร์ ศักดิ์วิวัฒน์กุล<sup>4</sup>

จากการศึกษาคุณสมบัติการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของหัวเชื้อคีเฟอร์ โดยใช้วิธี swab-paper disk พบว่าคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด คือ Kefir BT 1, Kefir BT 2, Kefir BT 3, Kefir BT 4 และ Kefir BT 5 สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ 4 ชนิดได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* และ *Staphylococcus aureus* โดย Kefir BT 4 มีกิจกรรมการยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* สูงสุดที่  $16.3 \pm 0.58$  มิลลิเมตร เมื่อนำสารสกัดส่วนใสปราศจากเซลล์ (cell free supernatant) ของเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ไปทดสอบคุณสมบัติพบว่าสามารถทนความร้อนสูงได้ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที แต่ไม่สามารถทนความร้อนได้ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**คำสำคัญ:** การยับยั้งแบคทีเรีย, คีเฟอร์, เชื้อแบคทีเรียก่อโรค

<sup>1</sup> นิสิตปริญญาโท คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>2</sup> อาจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>3</sup> ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร, คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>4</sup> อาจารย์ สาขาวิชาสัตวศาสตร์, คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

### Abstract

#### Antibacterial activity and heat resistant property of bacteriocin produced from kefir

Rungroj Sriraksa<sup>1</sup>, Sirirat Deeseenthum<sup>2</sup>, Anuchita Moongngam<sup>3</sup>, Kedsirin Sakwivatkul<sup>4</sup>

The antimicrobial activities of five kefir (Kefir BT 1, Kefir BT 2, Kefir BT 3, Kefir BT 4 and Kefir BT 5) were investigated by swab-paper disk method. All of have broad rang of antibacterial activity against 4 species such as *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* and *Staphylococcus aureus*, Kefir BT 4 have high antibacterial. The cell free suspensions of five kefir were heat resistant 10 minute at 100 °C, but 15 minute at 121 °C has not antibacterial activity.

**Keywords:** Antimicrobial, kefir, pathogenic bacteria

<sup>1</sup> Ms. D. student, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham Province 44150

<sup>2</sup> Lecturer Department of Biotechnobiology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham Province 44150

<sup>3</sup> Assist.Prof Department of Foodtechnobiology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham Province 44150

<sup>4</sup> Lecturer Department of Animal Science, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Maha Sarakham Province 44150

\*Corresponding author: Rungroj Sriraksa, r\_sriraksa@hotmail.com Department of Biotechnology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai District, Mahasarakham Province 44150

## บทนำ

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมที่มีการหมักเพื่อผลิตนมที่มีกรดและแอลกอฮอล์เล็กน้อย กรดในนม ชนิดนี้เป็นกรดแลคติกและกรดแลคติก ทำให้เกิดความเปรี้ยว นมหมักคีเฟอร์ผลิตจากการหมักนมกับเม็ดคีเฟอร์ (kefir grain) “เม็ดคีเฟอร์” หรือที่รู้จักกันในชื่อ “บัวหิมะ” คือ การรวมกลุ่มของจุลินทรีย์หลายชนิดประกอบด้วย จุลินทรีย์หลักคือแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ได้แก่ *Lactococci*, *Leuconostoc* และ yeast หลายหลายชนิดรวมถึงจุลินทรีย์อื่น ๆ อีกหลายชนิด (Mascher *et al.*, 2003) ลักษณะเม็ดคีเฟอร์จะมีสีขาวเหมือนดอกกะหล่ำ จุลินทรีย์เหล่านี้มาเกาะกลุ่มรวมกัน (cluster) แบบเอื้อประโยชน์ แก่กันเป็นความสัมพันธ์แบบพึ่งพา (symbiosis) (Pintado *et al.*, 1996; Frengova *et al.*, 2002)

แบคทีเรียโอซินเป็นสารประกอบประเภทโปรตีนที่ผลิตโดยแบคทีเรีย และมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น โดยส่วนใหญ่ถูกผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติก สารชนิดนี้เป็นที่สนใจอย่างมากในด้านการแพทย์และอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นสารที่มีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิดได้อย่างจำเพาะและผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่ถือว่ามีความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) ซึ่งมนุษย์ได้นำมาใช้ประโยชน์เป็นเวลานาน จึงมีการนำ

แบคทีเรียโอซินมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแทนการใช้สารเคมีเพื่อประโยชน์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรคได้ แบคทีเรียโอซินชนิดแรกที่ทำมาใช้ในการถนอมอาหารและยอมรับว่าปลอดภัย คือ nisin ที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus lactis* ซึ่งช่วยแก้ปัญหาการใส่สารปฏิชีวนะในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภทได้ (Klaenhammer, 1998; Stiles and Hastings, 1991) แม้ว่ามีการศึกษาและพบแบคทีเรียกรดแลคติกหลายชนิดที่สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินได้ แต่แบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิดก็ไม่สามารถนำไปใส่ในอาหารได้โดยตรง และแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดมีการต้านทานต่อแบคทีเรียโอซินดังเช่นการดื้อต่อสารปฏิชีวนะทั่วไป ดังนั้นการศึกษาทางด้านการผลิตแบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกจึงเพิ่มมากขึ้นตลอดเวลา เพื่อคัดเลือกเชื้อที่เหมาะสมที่สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินได้และนำไปใช้กับอุตสาหกรรมอาหารรวมถึงการศึกษาคูสมบัติของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตได้และกลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคของคีเฟอร์ และศึกษาคูสมบัติการทนต่ออุณหภูมิของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากคีเฟอร์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

## อุปกรณ์ และวิธีการ

### 1. การเลี้ยงเชื้อคีเฟอร์เพื่อผลิตแบคทีเรียโอซิน

การเตรียมสไลปรากจากเซลล์ทำได้โดย

เลี้ยงคีเฟอร์ในอาหารเหลว deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้อากาศ นำเชื้อที่เจริญไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารสกัดส่วนสไลปรากจากเซลล์ มาปรับ pH ให้ได้ 6.5 ด้วย 5 M HCl หรือ 5 M NaOH จากนั้นนำมากรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45  $\mu\text{m}$  เก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อใช้ทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคต่อไป สำหรับในการทดลองนี้ทำการเลี้ยงคีเฟอร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ในสภาวะที่ไม่มีอากาศทั้งนี้เพื่อให้เชื้อ คีเฟอร์ไม่สามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ หรือผลิตได้น้อยมากจนไม่สามารถไปยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ

### 2. การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

โดยวิธี Swab-paper disc

วิธีนี้ใช้หลักการแพร่กระจายของสารปฏิชีวนะจากแผ่นกระดาษกรองหรือแผ่น discs โปรอบ ๆ อาหารเลี้ยงเชื้อ ทำได้โดยนำ suspensions ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 100 ไมโครลิตร ( $\sim 1 \times 10^8$  โคโลนี/มิลลิลิตร) ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เทคนิค swab จากนั้นวาง disc ลงบนจานเพาะเชื้อแล้วใช้ไมโครปิเปตดูดคีเฟอร์ที่เลี้ยงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ใส่บน disc บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบ ๆ แผ่น disc

### 3. การทดสอบความสามารถในการทนต่อความร้อน

นำสารสกัดส่วนสไลปรากจากเซลล์ของคีเฟอร์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคไปทดสอบการทนต่อความร้อนในตู้อบความร้อนแบบแห้ง (hot air oven) โดยแปรผันอุณหภูมิที่ 50, 70, 90, 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 และ 30 นาที และที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดยใช้หม้อนิ่งความดันไอน้ำ (autoclave) จากนั้นนำไปทดสอบความสามารถในการยับยั้ง

การเจริญต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ คือ *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus subtilis* (แบคทีเรียแกรมบวก) *Escherichia coli* และ *Pseudomonas fluorescens* (แบคทีเรียแกรมลบ)

## ผลการทดลอง

### 1. การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค โดยวิธี Swab-paper disc

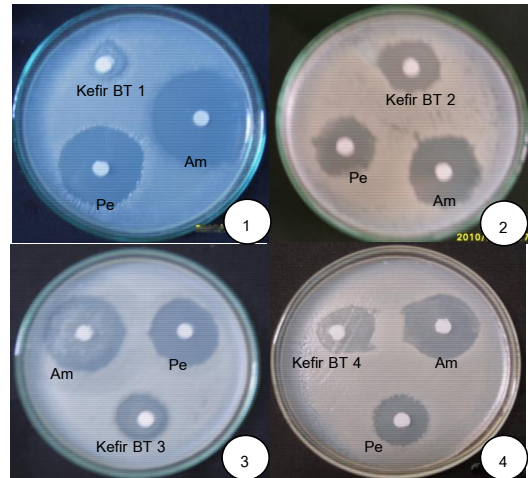
การศึกษาความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคของคีเฟอร์เปรียบเทียบกับการใช้ยาปฏิชีวนะ Ampicillin และ Penicillin ผลการทดลองพบว่าคีเฟอร์และยาปฏิชีวนะสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทั้ง 4 ชนิด คือ *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ และแบคทีเรียแกรมบวกได้ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และภาพที่ 1

### 2. ความสามารถในการทนต่อความร้อน

ในการศึกษาความสามารถทนต่อความร้อนของแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค โดยวิธี swab-paper disc พบว่าหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50, 70, 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 และ 30 นาที และ 100 องศาเซลเซียส ที่ 30 นาที และ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที พบว่า แบคทีเรียโอซินของคีเฟอร์สามารถยับยั้งการเจริญต่อเชื้อทดสอบได้ (ตารางที่ 2-6)

ตารางที่ 1 เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณที่ไม่มีเชื้อเจริญรอบ ๆ แผ่น disc (mm)

| ตัวอย่าง   | การยับยั้งเชื้อทดสอบที่ 24 ชั่วโมง (mm) |                    |                  |                       |
|------------|-----------------------------------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|            | <i>E. coli</i>                          | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| Kefir BT 1 | 10.6±1.54                               | 14.3±0.58          | 10.6±1.52        | 9.3±0.58              |
| Kefir BT 2 | 6.0±0.00                                | 12.6±0.58          | 12.6±0.58        | 10.3±0.58             |
| Kefir BT 3 | 10.3±0.58                               | 14.0±1.00          | 9.3±1.52         | 11.3±0.58             |
| Kefir BT 4 | 10.3±1.15                               | 14.3±0.58          | 12.0±1.00        | 16.3±0.58             |
| Kefir BT 5 | 8.3±0.58                                | 9.0±0.00           | 7.0±0.00         | 10.0±0.00             |
| Ampicillin | 28.3±1.15                               | 30.6±0.58          | 33.6±1.15        | 24.3±0.58             |
| Penicillin | 22.3±1.15                               | 26.3±0.58          | 30.3±0.58        | 23.3±0.58             |



ภาพที่ 1 บริเวณยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของคีเฟอร์ และยาปฏิชีวนะ Ampicillin (Am) และ Penicillin (Pe) บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar 1: เชื้อ Kefir BT 1 ยับยั้งเชื้อ *P. fluorescens* 2: เชื้อ Kefir BT 2 ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* 3: เชื้อ Kefir BT 3 ยับยั้งเชื้อ *E. coli* 4: เชื้อ Kefir BT 4 ยับยั้งเชื้อ *B. subtilis*

ตารางที่ 2 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยคีเฟอร์ BT 1 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

| อุณหภูมิ (°C) | เวลา (นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|---------------|-------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|               |             | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 50            | 10          | ++             | ++                 | +                | +                     |
|               | 30          | ++             | ++                 | +                | +                     |
| 70            | 10          | +              | +                  | +                | +                     |
|               | 30          | +              | +                  | +                | +                     |
| 90            | 10          | +              | +                  | +                | +                     |
|               | 30          | +              | +                  | +                | +                     |
| 100           | 10          | +              | +                  | +                | +                     |
|               | 30          | -              | -                  | -                | -                     |
| 121           | 15          | -              | -                  | -                | -                     |

+ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 1.00, ++ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 2.00, - ไม่มีการยับยั้งการเจริญ

ตารางที่ 3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 2 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เวลา<br>(นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                  |                | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 50               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 70               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 90               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 100              | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | -              | -                  | -                | -                     |
| 121              | 15             | -              | -                  | -                | -                     |

+ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 1.00, - ไม่มีการยับยั้งการเจริญ

ตารางที่ 4 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 3 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เวลา<br>(นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                  |                | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 50               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 70               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 90               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 100              | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | -              | -                  | -                | -                     |
| 121              | 15             | -              | -                  | -                | -                     |

+ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 1.00, - ไม่มีการยับยั้งการเจริญ

ตารางที่ 5 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 4 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เวลา<br>(นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                  |                | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 50               | 10             | ++             | ++                 | ++               | ++                    |
|                  | 30             | ++             | ++                 | ++               | ++                    |
| 70               | 10             | ++             | ++                 | ++               | ++                    |
|                  | 30             | ++             | ++                 | ++               | ++                    |
| 90               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |

ตารางที่ 5 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 4 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน (ต่อ)

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เวลา<br>(นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                  |                | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 100              | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | -              | -                  | -                | -                     |
| 121              | 15             | -              | -                  | -                | -                     |

+ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 1.00, ++ มีการยับยั้งการเจริญเท่ากับ 2.00, - ไม่มีการยับยั้งการเจริญ

ตารางที่ 6 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อสารชีวภาพที่ผลิตโดยเชื้อ Kefir BT 5 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อุณหภูมิและเวลาต่างกัน

| อุณหภูมิ<br>(°C) | เวลา<br>(นาที) | เชื้อแบคทีเรีย |                    |                  |                       |
|------------------|----------------|----------------|--------------------|------------------|-----------------------|
|                  |                | <i>E. coli</i> | <i>B. subtilis</i> | <i>S. aureus</i> | <i>P. fluorescens</i> |
| 50               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 70               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 90               | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | +              | +                  | +                | +                     |
| 100              | 10             | +              | +                  | +                | +                     |
|                  | 30             | -              | -                  | -                | -                     |
| 121              | 15             | -              | -                  | -                | -                     |

+ มีการยับยั้งการเจริญ, - ไม่มีการยับยั้งการเจริญ

## สรุปและอภิปรายผล

แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากเชื้อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *P. fluorescens*, *S. aureus* และ *B. subtilis* ได้ที่ 24 ชั่วโมง แต่มีรายงานว่าแบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus lactis* subsp. *Lactis* A7 สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบของแบคทีเรียโอซินเป็นการยับยั้งที่จำเพาะ (Gonzalez *et al.*, 1994 ) ยาปฏิชีวนะ Penicillin ยับยั้งเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น ซึ่งได้แก่ *S. aureus* และ *B. subtilis* เพนนิซิลลินเป็นยาที่ออกฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรีย (bactericidal) แต่ออกฤทธิ์ได้ไม่ดี กับแบคทีเรียที่สามารถสร้างเพนนิซิลลิเนส (penicillinase bacteria) หรือ เบตาแลคตาเมส

(beta-lactamase bacteria) รวมทั้งแบคทีเรียแกรมลบ (gram negative bacteria) ทั้งหมด (คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2544)

ผลการทดสอบคุณสมบัติของ cell free supernatant ของเชื้อคิเฟอร์พบว่า ความสามารถในการทนต่อความร้อนของ cell free supernatant สามารถทนความร้อนได้สูงถึงระดับความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10 นาที ซึ่งแบคทีเรียโอซินยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียคือ *E. coli*, *S. aureus* และ *B. subtilis* แต่แบคทีเรียโอซินไม่สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 20-30 นาที และที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Powell (2006) ที่พบว่า แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจาก *Lactobacillus plantarum* ST8KF ที่แยกจากคิเฟอร์ และ Kefir grain สามารถยับยั้งการเจริญ ต่อเชื้อทดสอบได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส Xie. et al., 2009, Gautam และ Sharma, 2009 ทดสอบคุณสมบัติของแบคทีเรียโอซินที่แยกได้จากเชื้อ *L. brevis* และ *B. subtilis* LFB 112 พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการบ่มแบคทีเรียโอซิน กิจกรรมการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *L. monocytogenes* และ *S. aureus* กิจกรรมการยับยั้งลดลงเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 121°C ที่ 10 และ 20 นาที และยังคงสอดคล้องกับรายงานของ Noonpakdee et al. (2003) ที่พบว่าโอซินที่ผลิตโดยเชื้อ *L. lactis* WNC 20 จะถูกทำลายไปเมื่ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากแบคทีเรียโอซินเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กจึงสามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงได้ และทนต่อความเป็นกรดได้มาก ดังนั้นทำให้สามารถนำแบคทีเรียโอซินไปใช้ประโยชน์ในการถนอมอาหารที่เป็นกรดได้ เช่น อาหารหมักดองต่าง ๆ และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมที่ต้องใช้ความร้อนสูงในกระบวนการผลิตได้ด้วย

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้ ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยงบประมาณรายได้มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ 2554 และได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช. บัณฑิตศึกษา) ปีงบประมาณ 2554

## References

คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. Natural Penicillins [ออนไลน์] [อ้าง เมื่อ 51 ก.ย. 22] 2554 จาก <http://www.vet.ku.ac.th/libraryhomepage/article/drug/abo/natpen.Htm>.

- Frengovaa G, Emilina I, Simovaa D, Beshkovaa D M and Simovb ZI. Exopolysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria of Kefir Grains Z. Naturforsch 2002; 57c: 805-810.
- Gautam N and Sharma N. Purification and characterization of bacteriocin produced by of *Lactobacillus brevis* MTCC 7539. Journal of Biochemistry and Biophysics 2009; 46: 337- 341
- Gonzalez B, Arca P, Mayo B and Suarez JE. Detection purification and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin. Appl Environ Microbiology 1994; 60: 2158-2163.
- Klaenhammer, T.R., "Bacteriocin of lactic acid bacteria," Biochimic, 70; 337-349, 1998.
- Mascher TN, Margulis G, Wang T, Ye RW and Helmann JD. Cell wall stress responses in *Bacillus subtilis*: the regulatory network of the bacitracin stimulon. Mol. Microbiol 2003; 50: 1591-1604.
- Noonpakdee W, Santivarangkna C, Junriangrit P, Sonomoto K and Panyim S. Isolate of nisin producing *Lactobacillus lactis* WNC 20 strain from ham, a traditional Thai fermented sausage. Int J Food Microbiology 2003; 81:137-145.
- Pintado ME, Lopes Da, Silva JA, Fernandes PB, Malcata FX and Hogg TA. Microbiological and rheological studies on Portuguese Kefir grains. Int. J. of Food Science and Technology 1996; 31: 15-26.
- Powell JE. Bacteriocin and bacteriocin produced present in kefir and kefir grain. nt Dairy J 2006; 17: 190-8.
- Stiles, ME and Hasting JW. Bacteriocin production by Lactic Acid Bacteria: Potential for Use in Meat Preservation. Trends in food Science and Technology 1991; 2(10): 247-251.
- Xie J, Zhang R, Shang C and Guo Y. Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens. Journal of Biotechnology 2009; 8 (20): 5611-5619.