หัวข้อโครงงานพิเศษ การสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นจากวัตถุดิบหาง่ายและกากอุตสาหกรรม

โดย นายพิชัยยุทธิ์ เตชะพงษ์

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

_____ หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มาลินี ตันติยาภรณ์)

_____ ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มาลินี ตันติยาภรณ์)

_____ กรรมการ

(ดร. เรียม เตชะโสภณมณี)

_____ กรรมการ

(อาจารย์ มลวิภา เกษแจ้ง)

_____ กรรมการ

(อาจารย์ อุ่นเรือน ศิริวานิชกูล)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นจาก วัตถุดิบหาง่ายและกากอุตสาหกรรม

นายพิชัยยุทธ์ เตชะพงษ์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์
พ.ศ. 2530

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRELIMINARY PREPARED FOR CULTIVATION OF MICROORGANISM FROM OTHER AVAILABLE ROW MATERIALS AND INDUSTRIAL WASTES

Mr. Pitchaiyut Tachapong

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Industrial Education and Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้นจากวัตถุดิบหาง่าย และกากอุตสาหกรรม

นักศึกษา นายพิชัยยุทธ์ เตชะพงษ์

อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. เรียม เตชะโสภณเมณี

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา 2530

บทคัดย่อ

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์จากสารอาหารสกัดโปรตีน จากวัตถุดิบหาง่าย พวก เนื้อวัว , หัวใจวัว และสมองวัว และสารอาหารวิตามินจาก กากตะกอนยีสต์ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน (Nutrient Agar) โดยเชื้อแบคทีเรีย Escherichia coli (E. coli) และ Staphylococcus epidermidis พบว่าความสามารในการเจริญทั้งสองบนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์ และอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐาน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและเมื่อนำน้ำดีไก่ที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณน้ำดีเท่ากับ 0.2 % โดยปริมาตร สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย E. coli ได้ถึง 42.9 % เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ผสมน้ำดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title PRELIMINARY PREPARED FOR CULTIVATION OF MICROORGANISM FROM OTHER AVAILABLE ROW MATERIALS AND INDUSTRIAL WASTES

Name Mr. Pitchaiyut Tachapong

Special Project Advisor Dr. Ream Techasoponmani

Department Biology

Academic Year 2530

ABSTRACT

Protein , cabohydrate , minirals and vitamins extracted from other available row materials and industrial wastes were prepared for cultivation of certain microorganisms such as Escherichia coli and Straphylococus epidermidis . Results obtained from this study indicated that E . coli and S . epidermidis could be grown well in the natrients synthesized Locally. In addition , bile added in the medium at various concentration and inhibitany effect for the growth of E . coli was inhibit growth of E . coli as much as 42.9 % whencompare to the midium without bile added

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ดร. เรียม เตชะโสภณมณี อาจารย์ที่ปรึกษาผู้ซึ่งให้ความช่วยเหลือ ทุนทรัพย์ , กำลังใจ , คำแนะนำ และให้คำปรึกษา รวมทั้งตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ผศ. มาลินี ตันติยาภรณ์ ประธานกรรมการ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือในการจัดซื้อสารเคมี , คำแนะนำและกำลังใจ ตลอดจนอาจารย์ มลวิภา เกษแจ้ง , อาจารย์อุ่นเรือน ดิริวานิชกุล กรรมการ ที่ได้กรุณาตรวจแก้ไขโครงงานพิเศษให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ , อาจารย์นวลพรรณ ณ ระนอง , อาจารย์ ผศ. เนาวรัตน์ ปานแย้ม , อาจารย์สินีนารถ สระตันส์ , อาจารย์วรรณา ตั้งเจริญชัย ที่กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนกำลังใจเสมอมา

ขอบขอบคุณ บริษัท บุญรอดบริเวอรี่ จำกัด ที่กรุณาให้กากตะกอนยีสต์และภาควิชาพยาธิวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์

ขอขอบใจอย่างมาก นางสาวสุภา สินทวีวงศ์ , นายศรายุทธ คำหริ่ม และเพื่อน ๆ น้อง ๆ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ที่ช่วยเหลือในการเตรียมการทดลอง และกำลังใจในการทำงาน , นายชาติชาย รัศมีวิจารณ์ และนายพิภพ สมิทธินันท์ ที่ช่วยเหลือในการจัดพิมพ์โครงงานฉบับนี้

สุดท้ายนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ , คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนช่วยเหลือจนสามารถสำเร็จการศึกษาได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย . . . . . ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ . . . . . จ
กิตติกรรมประกาศ . . . . . ฉ
สารบัญตาราง . . . . . ฌ
สารบัญภาพ . . . . . ญ
บทที่

1. บทนำ 1
สมมุติฐานสำหรับโครงการ 2
วัตถุประสงค์ของโครงการ 3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
ขอบเขตของงานวิจัย 3

2. แนวความคิด 5
2.1 คุณสมบัติเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษาในปัญหาพิเศษ 6
2.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ Escherichia coli 6
2.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ Staphylococus epidermidis . . 7
2.2 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ 8
2.2.1 แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน 9
2.2.2 แหล่งวิตามินและ growth factor 9
2.2.3 สารอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นในอาหารเลี้ยงเชื้อ . . . 10
2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 10
2.3.1 Enrichment media 10
2.3.2 Selective media 11
2.3.3 Differential media 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.4 Assay media 11
2.3.5 Media enuneration of microorganism . . 11
2.3.6 Media characterization of microorganism 11
2.4 ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ 11
2.4.1 อุณหภูมิ 11
2.4.2 รังสี 11
2.4.3 ความดัน 11
2.4.4 เสียง 13
2.4.5 ความชื้น 13
2.4.6 Hydrogen Ion Concentration (pH) 13
2.4.7 Oxidation - Reduction Potential หรือ
O-R Potential 13

3. การดำเนินงานวิจัย
3.1 การสกัดสารอาหารจากกากอุตสาหกรรมและวัตถุดิบหาง่าย . 15
3.1.1 การสกัดสารละลายจากเนื้อวัว 15
3.1.2 การสกัดสารละลายจากหัวใจวัว 15
3.1.3 การสกัดสารละลายจากสมองวัว 16
3.1.4 การเตรียมน้ำดีจากไก่ 16
3.1.5 การเตรียมสารละลายยีสต์ที่ย่อยสลายตัวเองจากกาก
ตะกอนเบียร์ 16
3.2 การวิเคราะห์สารอาหาร 16
3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ 16
3.2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและโปรตีน 17
3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต 18
3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ 18
3.2.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำดี 19
3.3 การศึกษาสัดส่วนสารอาหารสกัดที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ
จุลินทรีย์ 19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การศึกษาปริมาณน้ำดีที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ E . coli 21

4. ผลการทดลอง 23

บทสรุป 18

หนังสืออ้างอิง 30

ประวัติผู้เขียน 32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 : แสดงจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อแบคทีเรียตระกูล Enterobacteriaceae ต่อประชากรไทย 100,000 คนระหว่างปี พ.ศ. 2518 - 2523 5

ตารางที่ 2 : แสดงถึงความจำเป็นและหน้าที่ของแหล่งอาหาร 8

ตารางที่ 3 : แสดงช่วงอุณหภูมิในการเจริญของแบคทีเรียและจุลินทรีย์ต่าง ๆ . . 12

ตารางที่ 4 : แสดงองค์ประกอบในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อลังเคราะห์ และ Nutrient agar 20

ตารางที่ 5 : แสดงลักษณะและองค์ประกอบของสารสกัดอาหารจากวัตถุดิบหาง่าย และกากอุตสาหกรรม 24

ตารางที่ 6 : แสดงค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ Staphylococus epidermidis บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน 25

ตารางที่ 7 : แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญของเชื้อ Staphylococus epidermidis บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน 25

ตารางที่ 8 : แสดงค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ E . coli บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน 26

ตารางที่ 9 : แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญของเชื้อ E . coli บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน 26

ตารางที่ 10 : แสดงค่าวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำดี 27

ตารางที่ 11 : แสดงความแตกต่างของการเจริญเติบโตของ E . coli ในอาหารที่ผสมน้ำดีต่างกัน 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1	แสดงลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด	20
รูปที่ 2	แสดงลักษณะสารละลายสกัดจากวัตถุดิบหาง่ายและกากอุตสาหกรรม	23
รูปที่ 3	แสดงลักษณะโคโลนี E .coli เปรียบเทียบอาหารสังเคราะห์ MD I กับอาหารสังเคราะห์ MD II	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ (Microorganism Cultivation) ในอาหารสำเร็จรูปมีความสำคัญยิ่งต่อการวินิจฉัยโรคติดเชื้อประเภทต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคติดเชื้อของระบบทางเดินอาหารที่คนไทยเป็นมากเป็นอันดับหนึ่ง และก่อให้เกิดปัญหาด้านสาธารณสุขในปัจจุบันโรคเหล่านี้ได้แก่ บิดที่เกิดจากจุลินทรีย์ (Bacillary dysentery) อหิวาตกโรค (Cholera) และท้องเดินอย่างรุนแรงในเด็กอ่อนที่เกิดจาก Escherichia coil ซึ่งจุลินทรีย์ชนิดนี้มีอยู่ตามปกติในลำไส้มนุษย์ โดยไม่ทำให้เกิดโรคแต่อย่างใด นอกจากในเด็กอ่อนแรกเกิดที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้ บางสายพันธุ์อาจเป็นสาเหตุของอาการติดเชื้อ และเกิดท้องเดินอย่างรุนแรงได้ การวินิจฉัยโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ จำเป็นต้องมีการชัณสูตรทางห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาคลีนิก (Clinical micribiology laboratary) และจำเป็นต้องใช้อาหารเพื่อเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วย เพื่อนำไปดำเนินการชัณสูตรและทดลองยาต่อไป ประมาณการได้ว่าตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยที่สงสัยโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารเพียง 1 ตัวอย่าง จำเป็นต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในขั้นแรกของการแยกเชื้อถึง 4 ชนิด และเมื่อพบว่ามีจุลินทรีย์เจริญแล้ว ต้องทำการพิสูจน์เชื้อว่าเป็นชนิดใดเป็นสาเหตุของโรคที่สงสัยหรือไม่ และจะใช้ยาชนิดใดทำการรักษาจึงจะเหมาะสม ทำให้ต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์อีกมากกว่า 8 ชนิด รวมทั้งสิ้นเป็น 12 ชนิด สำหรับผู้ป่วยเพียงรายเดียว อาหารสำหรับใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เหล่านี้ยังไม่มีการผลิตในประเทศไทย ดังนั้นในแต่ละปี ประเทศเราจึงจำเป็นต้องเสียเงินสั่งซื้ออาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากต่างประเทศจำนวนมาก จากการศึกษาโดยสุ่มตัวอย่างแบบจงใจโดยใช้หลักการว่า โรงพยาบาลขนาดเล็กที่สุดที่จำเป็นต้องมีห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาคลีนิกนั้น คือโรงพยาบาลขนาด 50 เตียง และโรงพยาบาลขนาดใหญ่คือขนาด 1,000 เตียง หรือมากกว่า 1,000 เตียงขึ้นไป ซึ่งสำรวจเฉพาะในเขตกรุงเทพมหานคร แล้วพบว่ามีโรงพยาบาลที่จำเป็นต้องใช้อาหารสำหรับห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยาคลีนิก ดังนี้

โรงพยาบาลรัฐในสังกัดกระทรวงสาธารณสุข	30	แห่ง
โรงพยาบาลรัฐในสังกัดทบวงมหาวิทยาลัย	3	แห่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โรงพยาบาลรัฐในสังกัดกรุงเทพมหานคร	5	แห่ง
โรงพยาบาลเอกชน	51	แห่ง

จากการคำนวณโดยเฉลี่ยจะประมาณการใช้อาหารจุลินทรีย์ ปีละไม่น้อยกว่า 13,000,000 ลิตร คิดเป็นเงินที่ใช้สั่งซื้อจากต่างประเทศ ประมาณ 25,000,000 บาท

นับเป็นสิ่งที่น่าสนใจและสมควรคิดพิจารณาว่า อาหารจุลินทรียย์เหล่านี้ต้องเสียเงินตราในการสั่งซื้อจากต่างประเทศ ทั้งที่ส่วนประกอบของอาหารดังกล่าวสามารถสกัดได้จากวัตถุดิบหลายชนิดที่มีพร้อมในประเทศ เช่น สารอาหารโปรตีนที่สกัดจาก เนื้อสด หัวใจวัว สมองวัว นม ไข่ ฯลฯ สารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตสามารถสกัดได้จากข้าวมอลท์ มันฝรั่ง ผลไม้หลายชนิดและสารอาหารวิตามินสกัดได้จากยีส์ต เชื้อรา จุลินทรีย์ ปัญหาและความสำคัญของการผลิตอาหารจุลินทรีย์ได้แก่มาตราฐานและคุณภาพที่จำเป็นต้องมีการควบคุมให้ได้ผล เพราะไม่เช่นนั้นจะทำให้เกิดผลเสียหายอย่างมากในการนำไปใช้และทำให้เกิดข้อผิดพลาดในการแปรผล ส่งผลเสียหายในการวินิจฉัยโรค โดยทำให้เกิดความล่าช้า บกพร่องได้

โครงการวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะศึกษาถึงวิธีสกัดสารอาหารชนิดต่าง ๆ จากวัตถุดิบที่มีพร้อมแล้วภายในประเทศ รวมทั้งกากและของเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมที่เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ประโยชน์ และนำมาผสมเป็นอาหารจุลินทรีย์สำหรับการทดลองเบื้องต้นเพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับการแก้ไข ปรับปรุงตลอดจนคุณภาพที่ควรคำนึงถึง เพื่อให้เหมาะแก่การนำไปใช้ให้เกิดผลอย่างจริงจัง สำหรับจุดหมายสูงสุดในอนาคตที่จะทำการผลิตอาหารจุลินทรีย์ที่ สามารถนำไปใช้งานได้อย่างสมบูรณ์ และเป็นที่เชื่อถือแก่ผู้นำไปใช้เทียบผลิตภัณฑ์จากต่างประเทศ

<u>สมมุติฐานสำหรับโครงการ</u>

1. สารอาหารสกัดจากเนื้อสด หัวใจวัวและสมองวัว อาจใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน และคาร์บอนในการเตรียมอาหารจุลินทรีย์บางชนิดได้
2. สารอาหารสกัดจากยีสต์ อาจใช้เป็นแหล่งเกลือแร่ และวิตามินในการเตรียมอาหารจุลินทรีย์บางชนิดได้
3. น้ำดีจากสัตว์ อาจใช้เป็นสารชะลอการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. ศึกษาถึงแหล่งสารอาหารที่เป็นไปได้ในการใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้น
2. ศึกษาถึงวิธีการสกัดสารอาหารประเภทต่าง ๆ ให้มีคุณภาพในขณะที่ใช้เครื่องมือและเทคโนโลยีที่จัดหาได้ภายในประเทศ
3. ศึกษาคุณสมบัติของสารอาหารที่สกัดได้
4. ทดลองผสม และสร้างสูตรอาหารสำหรับจุลินทรีย์บางชนิด
5. ทำการเปรียบเทียบผลการใช้อาหารจุลินทรีย์กับอาหารสำเร็จรูปของต่างประเทศ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เป็นการใช้ทรัพยากรในประเทศให้เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่า และตรงกับความต้องการของประเทศ
2. เป็นการรู้จักใช้วิทยาการทางวิทยาศาสตร์ประยุกต์ให้เกิดผล ซึ่งเป็นแนวทางของการรู้จักหาทางพึ่งตนเองในอนาคต
3. เป็นการสร้างสรรวิชาการให้เหมาะสมแก่ประเทศ
4. ผลสำเร็จจะทำให้เกิดการประหยัดเงินตราในการสั่งซื้อสินค้าจากต่างประเทศ
5. ฝึกทักษะในการรู้จักตั้งสมมุติฐาน วางแผนการทดลอง และแปรผลการทดลอง

ผู้ที่ได้ประโยชน์จากงานวิจัยนี้ได้แก่ ประชาชน และสังคมโดยส่วนรวม ทั้งด้านวิชาการและการนำไปใช้ตามหน่วยงาน ตลอดจน กิจการอุตสาหกรรมและเกษตรอุตสาหกรรมที่มีวัตถุดิบดังกล่าว

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ทำการสกัดสารอาหารจาก เนื้อวัว หัวใจวัว สมองวัว ยีสต์ และน้ำดีจากไก่
2. ทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบทางเคมีของสารอาหารที่สกัดได้
3. นำผลของส่วนประกอบทางเคมีที่วิเคราะห์มาคำนวณ และเตรียมสูตรอาหารต่าง ๆ
4. ทดลองเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บางชนิดด้วยสูตรอาหารที่เตรียมขึ้น และเปรียบเทียบผลเบื้องต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. น้ำดีจากไก่มาผสมลงในสูตรอาหารที่เหมาะสม เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการหยุดยั้งการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวความคิดและทฤษฎี

เนื่องจากประเทศไทย เป็นประเทศที่มีภูมิอากาศอยู่ในเขตร้อน อุณหภูมิห้องโดยเฉลี่ยเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส (° ซ) หรือสูงกว่าเมื่อถึงฤดูร้อน ภูมิอากาศเช่นนี้ทำให้การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในระหว่าง 30 - 37 ° ซ ดังนั้น โรคติดเชื้อจุลินทรีย์ในประเทศไทยจัดเป็นปัญหา ด้านสาธารณสุขที่ทำให้เกิดการเสียชีวิตปีละมาก ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร (1) ที่คนไทยเป็นกันมาก ซึ่งมีการเกิดจากแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae ได้แก่ โรคไข้ไทฟอยด์ที่เกิดจาก Salmonella typhi , โรคบิดจากแบคทีเรียที่เกิดจาก Shigelle dysenteriae และโรคท้องร่วงอย่างเฉียบพลันในเด็ก ที่เกิดจาก Enteropathogenic Escherichai coli หรือ EEC (ตารางที่ 1) ซึ่งเป็นสาเหตุการตายอันดับ 1 ในเด็กเล็กอายุต่ำกว่า 1 ปี (1) นอกจากโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากแบคทีเรียในตระกูล Enterobacteriaceae ยังพบโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่ปนเปื้อนแบคทีเรียชนิดอื่น เช่น โรคอาหารเป็นพิษที่เกิดจาก Staphylococus acercus , Clostridium botulinum , Cl. perfringens type A , Bacillus cercus และโรคอหิวาตกโรค ที่เกิดจาก Vibrio cholerae

พ.ศ.	โรคท้องร่วงเฉียบพลัน	โรคไทฟอยด์	โรคบิด
2518	62,756	3,921	5,520
2519	73,446	6,313	7,734
2520	98,662	11,901	11,976
2521	136,759	8,706	11,680
2522	176,576	10,088	30,142
2523	216,065	10,043	26,626

ตารางที่ 1 : แสดงจำนวนผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อแบคทีเรียตระกูล Enterobacteriaceae ต่อประชากรไทย 100,000 คน ระหว่างปี พ.ศ. 2518 - 2523

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อชนิดต่าง ๆ จำเป็นต้องมีการชัณสูตรทางห้องปฏิบัติการตรวจจุลชีววิทยาคลีนิค (Clinical microbiology Laboratory) และจำเป็นต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในตัวอย่างที่เก็บจากผู้ป่วย เพื่อนำไปดำเนินการชันสูตรและทดลองยาต่อไป ประมาณการได้ว่าตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยที่สงสัยโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารเพียง 1 ตัวอย่าง จำเป็นต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในชั้นแรกของการแยกเชื้อถึง 4 ชนิด และเมื่อพบว่ามีจุลินทรีย์เจริญแล้ว ต้องทำการพิสูจน์เชื้อว่าเป็นชนิดใดเป็นสาเหตุของโรคที่สงสัยหรือไม่ และจะใช้ยาชนิดใดทำการรักษาจึงจะเหมาะสม ทำให้ต้องใช้อาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จักมากกว่า 8 ชนิด รวมทั้งสิ้นเป็น 12 ชนิด สำหรับผู้ป่วยเพียงรายเดียว ดังนั้นการเตรียมอาหารจุลินทรีย์จำเป็นต้องทราบถึง คุณสมบัติ,ความต้องการสารอาหารของจุลินทรีย์ และปัจจัยที่ช่วยในการเจริญเติบโตได้ดี ดังนี้

2.1 คุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ศึกษาในปัญหาพิเศษ

จากปัญหาพิเศษเป็นการสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เบื้องต้น ดังนั้นจึงเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาได้ และเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ในทั่วไป ดังนั้นเราจึงเลือกเชื้อจุลินทรีย์ E . coli เป็นตัวแทนของแบคทีเรียรูปแท่งแกรมลบ และเชื้อจุลินทรีย์ S . epidermidis เป็นตัวแทนของแบคทีเรียรูปกลมแกรมบวก

2.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ Escherichia coli

E . coli เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในการตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด และน้ำในการบริโภค โดยนิยมใช้เชื้อ E . coli เป็นเกณฑ์ในการหาคุณภาพผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนอุจจาระ เนื่องจากพบเชื้อในลำไส้ใหญ่และอุจจาระของคน ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่พบอยู่ปกติในร่างกายในระบบทางเดินอาหาร E . coli สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เช่น มีชีวิตอยู่ตามเสื้อผ้าแห้ง และในฝุ่นละอองได้หลายวัน อยู่ในน้ำได้นานหลายสัปดาห์ แต่ถูกทำลายเมื่อต้มที่ 60 °ซ นาน 30 นาที จึงพบได้โดยทั่วไปในดินและน้ำ E . coli บาง serotype อาจก่อให้เกิดโรคในคน เช่น โรคอุจจาระร่วง(Diarrheal diseases), โรคติดเชื้อของระบบทางเดินปัสสาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

E . coli จัดอยู่ใน Family Enterobacteriaceae Genus Escherichia (Bergey's Manual :ed.8) เป็นแบคทีเรียพวก Facultave รูปแท่งแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ มีแฟรกเจลลา ในการเคลื่อนที่ บางสายพันธุ์มีแคปซูลเจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดา แต่เลี้ยงบนอาหาร Macconkey Agar โคโลนี ขนาดเส้นผ่านศูนย์ 2-3 มิลลิเมตร และมีสีชมพูแดง เนื่องจากหมักย่อยแลกโตสเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH ประมาณ 7.0 คุณลักษณะที่สำคัญสำหรับการวินิจฉัย E .coli ได้แก่ การทดสอบ IMVIC ให้ผล +,+,-,- ตามลำดับ (3)

2.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ Staphylococcus epidermidis

Staphylococcus เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในทางการแพทย์ เนื่องจากเชื้อนี้เป็นต้นเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อแบคทีเรียในคน และสามารถทำให้เกิดโรคได้ในเกือบทุกระบบของร่างกาย และยังเป็นสาเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อที่เกิดในโรงพยาบาล เช่น การติดเชื้อในทารกแรกเกิด และแผลผ่าตัด เป็นต้น นอกจากนี้ Staphylococcus มีความสามารถปรับตัวในภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี และรวดเร็ว กล่าวคือ สามารถทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส ได้นาน 1 ชั่วโมง , มีชีวิตในที่เย็น 4 ° ซ เป็นเวลาหลายเดือน และทนความเข้มข้นของเกลือได้สูงถึง 7.5 - 10 % เชื้อ Staphylococcus บางสายพันธุ์สามารถสร้างเอมไซม์ pennicillinase จึงดื้อต่อยาปฏิชีวนะเพนนิซิลลินได้

S . epidermidis จัดอยู่ใน Family Micococaeae Genus Staphylococcus (Bergey's Manual of Determinative Bacteriology , 1974) ชื่อเดิมเรียก S . albus ซึ่งมาจากคำว่า album แปลว่า สีขาว ส่วน Staphylococus มาจากภาษากรีก "Staphyle" แปลว่า พวงองุ่น ซึ่งมีรูปร่างกลมเรียงตัวเป็นกลุ่มเหมือนพวงองุ่น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 ไมโครเมตร เป็นแบคทีเรียแกรมบวก , ไม่สร้างสปอร์ และไม่เคลื่อนที่ เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาทุกชนิด pH ระหว่าง 4.8 - 7.4 เจริญได้ดีแม้สภาวะที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย อุณหภูมิที่เจริญได้ดี 37 องศาเซลเซียส แต่สร้างรงควัตถุได้ดีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่าปกติ โคโลนีบนอาหารวุ้นมีลักษณะกลม,นูน เป็นมันเงา สีขาวเหมือนชอล์ก เชื้อแบคทีเรียนี้อาศัยอยู่ทั่วไปตามผิวหนัง และเยื่อบุต่าง ๆ โดยทั่วไปเชื้อนี้จะไม่ทำให้เกิดโรค นอกจากในบางสภาวะที่ความต้านทานของร่างกายต่ำจึงอาจทำให้เกิดโรคได้ เพราะ S. epidermidis ไม่สร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารพิษและเอมไซม์ จึงเป็นแบคทีเรียที่ไม่มีความรุนแรงและก่อให้เกิดโรค (non-rirulent และ non-pathogenic organism) (2) คุณลักษณะที่สำคัญในการวินิจฉัย S. epidermidis ได้แก่ การทดสอบ Coagulase , Noroviocin Resistance , Mannitol และ Hemolysis ให้ผล - , - ,- ,(+/-) ตามลำดับ (4)

2.2 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์

แหล่งอาหารที่มีความจำเป็น และต้องการเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตได้ดีของจุลินทรีย์ทั่วไป ได้แก่ แหล่งคาร์บอน , แหล่งไนโตรเจน , แหล่งวิตามิน และ Growth factor นอกจากแหล่งอาหารข้างต้น ยังมีแหล่งอาหรอื่น ๆ ที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโตได้เช่นกัน (ตารางที่ 2) แต่ปริมาณความต้องการเมื่อเทียบกับแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนมีไม่มาก

แหล่งอาหาร	ความจำเป็นและหน้าที่	ปริมาณความเข้มข้นที่ต้องการ (โมล / ลิตร)
ไฮโดรเจน	ส่วนประกอบของเซล	-
ออกซิเจน	ส่วนประกอบของเซลและถูกใช้โดยจุลินทรีย์พวกหายใจที่ต้องใช้ออกซิเจน	-
กำมะถัน	ส่วนประกอบโปรตีนและโคเอนไซม์	10^{-4}
ฟอสเฟต	ส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก	10^{-4} - 10^{-3}
โปตัสเซียม	สารอิออนบวกในเซลและส่วนประกอบของโคเอนไซม์	10^{-4} - 10^{-3}
แมกนีเซียม	ส่วนประกอบของโคเอนไซม์ คลอโรฟิวส์ , ผนังเซล และเซลเมมเบรน	10^{-4} - 10^{-3}

ตารางที่ 2 : แสดงถึงความจำเป็นและหน้าที่ของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ในปัญหาพิเศษนี้จึงมุ่งสกัดสารอาหารจากวัตถุดิบหาง่าย และกากอุตสาหกรรม เฉพาะแหล่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตได้ดีของจุลินทรีย์ คือ แหล่งคาร์บอน, ไนโตรเจน , แหล่งวิตามิน และ growth factors

2.2.1 <u>แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน</u>

แหล่งคาร์บอน หมายถึง สารประกอบที่มีคาร์บอนอยู่และ แหล่งไนโตรเจน หมายถึง สารประกอบที่มีไนโตรเจนอยู่ ความสามารถในการนำสารอาหารไปใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ แต่ละชนิดต่างกัน แบคทีเรียพวก Autotrophs ได้รับคาร์บอนจากคาร์บอนไดออกไซด์ หรือเกลือคาร์บอเนต ส่วนไนโตรเจนได้จาก เกลือแอมโมเนีย หรือ ไนเตรต แบคทีเรียพวก Heterotrophs ได้คาร์บอนจากสารประกอบอินทรีย์ เช่น โปรตีน , ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ส่วนไนโตรเจนได้จากกรดอะมิโนต่าง ๆ

จากส่วนประกอบของสารอาหารที่สกัดได้จากวัตถุดิบหาง่ายในประเทศ ได้แก่ เนื้อวัว , หัวใจวัว และสมองวัว พบว่ามีคุณสมบัติเหมาะสมที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้เพื่อเจริญเติบโตได้ โดยมีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต ดังนี้ ปริมาณโปรตีนในเนื้อวัว , หัวใจวัว และสมองวัว เท่ากับ 19.2 , 16.5 และ 10.5 % ตามลำดับ ปริมาณไขมันเท่ากับ 9.0 , 4.0 และ 9.0 % ตามลำดับ (5) ดังนั้น วัตถุดิบดังกล่าวจึงน่าจะนำมาสกัดสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

2.2.2 <u>แหล่งวิตามินและ growth factor</u>

C. Funk เป็นผู้พบว่าวิตามินเป็นสารประกอบที่มนุษย์ต้องการเพียงเล็กน้อย แต่มีความสำคัญอย่างยิ่งที่จะทำให้ร่างกายดำรงชีวิต และเจริญเติบโตตามปกติอยู่ได้ ถ้าหากขาดวิตามิน จะทำให้มีอาการผิดปกติเกิดขึ้น ส่วน growth factors หมายถึง สารประกอบใดก็ตามที่ช่วยส่งเสริมหรือเร่งอัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ให้ดีขึ้น

ได้มีการทดลองหาวิตามินและ growth factors จากแหล่งของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ปรากฏว่า Yeast extract มีวิตามินบีรวมใช้ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเข้มข้น 1 - 2 % เนื่องจาก Yeast Autolysate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนประกอบของโปรตีน 65.1 % , คาร์โบไฮเดรต 20.5 % , ไขมัน 0.1 % ,กรดนิวคลีอิค, กรดอะมิโน และวิตามินด้วย (6) ดังนั้น Yeast Autolysate จากกากตะกอนยีสต์ในอุตสาหกรรม จึงน่ามีสารอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี

2.2.3 สารอาหารอื่น ๆ ที่จำเป็นในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ต่าง ๆ มีอัตราการเจริญเติบโตต่างกัน ดังนั้น จุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนอยู่ในสิ่งที่เราเก็บส่งตรวจ แต่มีอัตราการเจริญเติบโตที่ช้า จึงทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเจริญเติบโตแทน จนไม่สามารถสังเกตุพบจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคดังกล่าว

ในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ บางชนิดจึงจำเป็นต้องเติมสารที่ช่วยในการเจริญของจุลินทรีย์ที่เราต้องการแยก และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น bile salt มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ แบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบบางชนิด (7)

น้ำดีซึ่งเป็นกากเหลือใช้ในอุตสาหกรรมฆ่าสัตว์ปีก ซึ่งมี bile salt ดังนั้น จึงน่ามีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน

2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ หมายถึง สารที่ใช้เป็นแหล่งอาหารสำหรับการเจริญและการทวีจำนวนของจุลินทรีย์ ซึ่งมีคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ควรมีธาตุอาหารเหมาะสมแก่การเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิด , ค่ากรดด่างและความชื้นเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์และปราศจากสารมีพิษและจุลินทรีย์อื่น ๆ ดังนั้น จึงมีการเตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มากมาย โดยมีจุดประสงค์เพื่อประโยชน์ในการใช้ต่าง ๆ ซึ่งสามารถจำแนกอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ตามประโยชน์ที่ใช้ที่สำคัญ ดังนี้

2.3.1 Enrichment media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้แยกเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ โดยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ต้องการและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 selective media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกจุลินทรีย์ที่ปะปนกันอยู่ โดยเติมสารเคมีบางอย่างเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ แต่ไม่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เราต้องการ

2.3.3 Differential media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้แยกชนิดของจุลินทรีย์ในอาหาร โดยอาศัยลักษณะความแตกต่างของโคโลนี และการสร้างเอนไซม์

2.3.4 Assay media เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นสำหรับใช้ในการทดลองโดยเฉพาะ เพื่อตรวจสอบสารบางที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้น

2.3.5 Media enuneration of microorganism เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นเพื่อนับจำนวนของจุลินทรีย์

2.3.6 Media characterization of microorganism เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมขึ้นเพื่อให้จุลินทรีย์เจริญได้ดีได้หลายชนิด

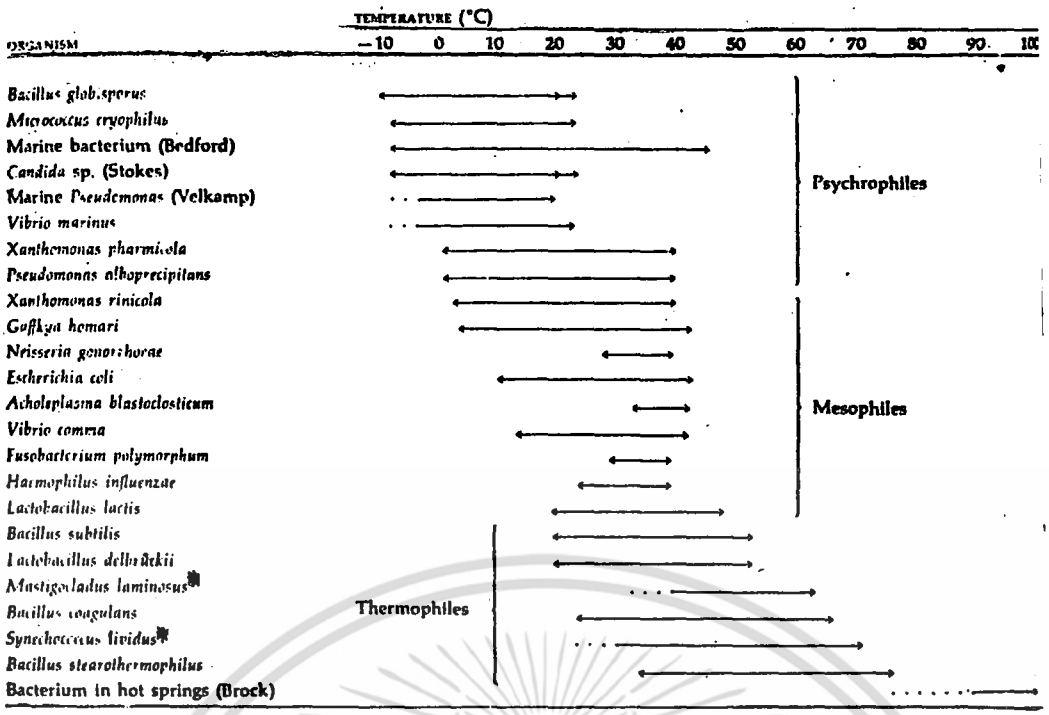
2.4 ปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

ปัจจัยสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์ แต่ละชนิดมีความทนทานและความต้องการต่างกัน ดังนั้น ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เจริญเติบโตได้ดี จึงควรต้องปรับสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดนั้น สภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของจุลินทรีย์มีดังนี้

2.4.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเจริญและการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ โดยความต้องการอุณหภูมิในการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน (ตารางที่ 3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



*สาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

ตารางที่ 3 : แสดงช่วงอุณหภูมิในการเจริญของแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ต่าง ๆ

(ที่มา : Carpenter, phillip L 1972 Microbiology p.221)

2.4.2 รังสี

รังสี หมายถึง พลังงานที่กำลังเคลื่อนตัวอยู่ เป็นพลังงานที่ถ่ายทอดผ่านจุดหนึ่งไปอีกจุดหนึ่ง โดยใช้กำลังทะลุทะลวงผ่านสิ่งต่าง ๆ ได้ จึงนิยมใช้รังสีในการทำลายแบคทีเรีย

2.4.3 ความดัน

แบคทีเรียมีความทนต่อความดันไอน้ำ (hydrostatic presure) ได้ดี Zobell พบว่า แบคทีเรียไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลว ซึ่งอยู่ในที่ที่มีความดัน 2540 - 8820 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นอกจากนี้พบว่า แรงกดดันมีผลต่อรูปร่างและความสามารถในการเคลื่อนที่และต่อการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 <u>เสียง</u>

แบคทีเรียแต่ละชนิดทนต่อเสียงได้ต่างกัน นิยมใช้คลื่นเสียงที่มีความถี่สูงกว่า Supersonic wave ในการทำลายแบคทีเรียได้ โดยทำให้เซลแตก

2.4.5 <u>ความชื้น</u>

น้ำเป็นสิ่งสำคัญในขบวนการเมตาโบลิซึมของแบคทีเรีย และสิ่งมีชีวิตทั่วไป โดยแบ่งความต้องการน้ำของจุลินทรีย์ได้เป็น 2 ชนิด

ก. free water ได้แก่น้ำที่ยังไม่ได้ถูกนำไปใช้ทำปฏิกิริยากับสารประกอบอย่างใดอย่างหนึ่ง แบคทีเรียหรือจุลินทรีย์อื่น ๆ สามารถนำไปใช้ได้

ข. bound water เป็นน้ำที่ยึดเกาะกับโมเลกุลของสารประกอบ เช่น $NaCl.H_2O$ ซึ่งน้ำชนิดนี้จุลินทรีย์ไม่สามารถนำไปใช้ได้

2.4.6 <u>Hydrogen Ion Concentration</u> (pH)

เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์ หรือสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ถูกควบคุมโดยขบวนการเมตาบอลิซึม ซึ่งมีน้ำย่อยเป็นตัวการสำคัญ และการทำงานของน้ำย่อยถูกควบคุมโดย pH โดยทั่วไป pH ที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะแตกต่างกันไป การเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารซึ่งตอนแรกมี pH ที่เหมาะสม ต่อมา เมื่อแบคทีเรียใช้อาหารนั้นไปในการเจริญก็จะขับของเสียออกมา เช่น ย่อยโปรตีน และสารประกอบที่มีไนโตรเจน สิ่งที่ขับออกมาเป็นพวกแอมโมเนีย หรือ alkaline อื่น ๆ ย่อยคาร์โบไฮเดรตจะขับพวกกรดอินทรีย์ ซึ่งทำให้ pH ของอาหารเปลี่ยนแปลงไปจนอยู่ในสภาพไม่เหมาะสมที่จะเจริญได้ ดังนั้นการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จึงต้องใส่สารบางอย่างที่ช่วยให้สารอาหารเปลี่ยนแปลงไปอย่างช้า ๆ เรียกว่า Buffer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.7 Oxidation-Reduction Potential หรือ O-R Potential

oxidizing agent หมายถึง สารที่ทำให้เกิด oxidation หรือสารที่เป็นตัวรับอิเลคตรอน

reducting agent หมายถึง สารที่ทำให้เกิด reduction หรือเป็นตัวให้อิเลคตรอน

การเจริญของจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับความสามารถในการเกิดขบวนการ oxidation - reduction ซึ่งขบวนการนี้สามารถควบคุมได้โดย oxidizing agent และ reducting agent และสามารถวัดการเกิดปฏิกิริยาของการเกิดขบวนการนี้ได้โดย electrometrix apparatus

แบคทีเรียต่าง ๆ มีความสามารถในเรื่อง O-R potential ได้แตกต่างกันไป โดยพวกเจริญได้ดีในที่มีออกซิเจนจะมีความสามารถทนทานต่อสารที่มี potential สูง ได้ดีกว่าพวกที่เจริญได้ดีในที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งต้องการอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี potential เป็บลบ ดังนั้น อาหารเลี้ยงเชื้อที่เลี้ยงแบคทีเรีย ในสภาพที่มีอากาศจะทำให้เกิด potential บวก แต่โดยทั่วไป การเจริญของแบคทีเรียต้องการ potential ต่ำ

ดังนั้น จากความรู้พื้นฐานในเรื่องคุณสมบัติของเชื้อจุลินทรีย์ , สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และปัจจัยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถนำไปสู่การสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ให้มีการเจริญเติบโตได้ดีต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

3.1 การสกัดสารอาหารจากการอุตสาหกรรม และวัตถุดิบหาง่าย

3.1.1 การสกัดสารละลายจากเนื้อวัว

นำเนื้อวัวที่สดมาชำแหละส่วนไขมันและเอ็นออก ซึ่งเนื้อวัวดังกล่าว 300 กรัม แล้วนำมาปั่นละเอียด ขณะที่ตีปั่นเติมน้ำกลั่นที่ ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาคั้นและกรองด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยจะได้สารละลายจากเนื้อวัวจำนวนหนึ่ง นำสารละลายดังกล่าวมาปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำมาตีปั่นกับเนื้อวัวที่ชำแหละไขมันและเอ็นเช่นกัน จำนวน 100 กรัม แล้วคั้นและกรองด้วยผ้าขาวบางดังข้างต้น ซึ่งจะได้สารละลายจากเนื้อวัวอีกจำนวนหนึ่งที่เข้มข้นขึ้น แล้วจึงนำสารละลาย ทั้งสองมารวมกัน แล้วนำไปตกตะกอนโดยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugration BHG Hermle 2K 365) ที่อุณหภูมิ 25 °ซ ด้วยความเร็วรอบเท่ากับ 3,000 รอบต่อนาที โดยใช้เวลานาน 30 นาที และดูดเก็บสารอาหารใส่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร และนำไปเก็บไว้ที่ อุณหภูมิต่ำกว่า 0 °ซ เพื่อใช้ในการศึกษา และดำเนินงานต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 การสกัดสารละลายจากหัวใจวัว

การสกัดสารละลายจากหัวใจวัว มีวิธีการสกัดเช่นเดียวกับการสกัดสารละลายจากเนื้อวัว เพียงแต่เปลี่ยนจากเนื้อวัวเป็นหัวใจวัวแทน

3.1.3 การสกัดสารละลายจากสมองวัว

นำสมองวัวที่สดมาชำแหละส่วนเอ็นและเศษเนื้อที่ติดออกมา ชั่งสมองวัวดังกล่าว 300 กรัม แล้วนำมาตีปั่นละเอียด ขณะที่ตีปั่นเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 150 มิลลิลิตร แล้วนำตกตะกอนโดยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifugration BHG Hermle 2K 365) ที่อุณหภูมิ 25 ° ซ ด้วยความเร็วรอบเท่ากับ 9,000 รอบต่อนาที โดยใช้เวลานาน 60 นาที และดูดเก็บสารละลายใส่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 ° ซ เพื่อใช้ในการศึกษาและดำเนินงานต่อไป

3.1.4 การเตรียมน้ำดีจากไก่

นำถุงน้ำดีจากไก่มาเจาะโดยใช้เข็มที่ผ่านเปลวไฟ และเก็บน้ำดีที่ได้ใส่ขวดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 ° ซ เพื่อใช้ในการศึกษาและดำเนินงานต่อไป

3.1.5 การเตรียมสารละลายยีสต์ที่ย่อยสลายตัวเองจากกากตะกอนเบียร์

นำกากตะกอนยีสต์จากอุตสาหกรรมเบียร์ จากบริษัท บุญรอด บริเวอรี่ จำกัด มาปริมาตร 1,250 มิลลิลิตร และปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30 ° ซ) เป็นเวลานาน 7 วัน โดยจะเกิดสารละลายจากยีสต์ที่ย่อยสลายตัวเอง (Yeast Autolysate) และเก็บสารละลายดังกล่าวใส่ขวดแก้ว 100 มิลลิลิตร และเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาและดำเนินงานต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 การวิเคราะห์สารอาหาร

3.2.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์

1. ของผสมตัวเร่ง (catalyst Mixture) : ผสม โซเดียมซัลเฟต(Sodium Sulphate) 400 กรัม , ไฮเดรตคอปเปอร์ซัลเฟต (Hydrate Copper Sulphate) 18 กรัม และซีลีเนียมไดออกไซด์ (Selenium Dioxide) 3 กรัม เข้าด้วยกัน

2. Screened Methyl RED Indicator : ละลาย Methyl RED 0.016 กรัม และ Bromocresol Green 0.083 กรัม ในแอลกอฮอล์ 100 มิลลิลิตร

3. สารละลาย Benedict Guantitative Reagent : ละลาย Sodium Carbonate 100 กรัม , Sodium Citrate 200 กรัม และ Photassium Thiocyanate 125 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ตามด้วย 5 % Photassium Ferrocyanide 5 มิลลิลิตร คนให้ผสมกันทั่ว แล้วทำให้ปริมาตรทั้งหมดเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น

4. Concentration H_2SO_4
5. 2 % Boric Acid
6. 40 % NaOH
7. 0.02 M. HCl
8. ผง Sodium Carbonate
9. 95 % Ethanol
10. Diethyl Ether
11. 1 % Phenolphthalein (ละลายใน 50 % Ethanol)
12. สารละลายมาตรฐาน 0.1 M. NaOH

เครื่องมือและเครื่องแก้ว

1. คนโทคอยาวสำหรับย่อย ขนาด 100 มิลลิลิตร
2. บิวเรตต์
3. คนโททรงกรวย ขนาด 100 มิลลิลิตร

12434

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ตะเกียงบุนเสน

3.2.2 วิธีวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และโปรตีน

ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในที่นี้ใช้วิธี Semi-Micro Kjeldahl Distillation (8)

เตรียมสารละลายตัวอย่างปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ใส่คนโทคอยาวสำหรับย่อย ใส่ของผสมตัวเร่ง 0.8 กรัม และกรดกำมะถันเข้มข้น 2 มิลลิลิตร นำไปย่อยโดยใช้ความร้อนด้วยไฟอ่อน ๆ ประมาณ 5 นาที แล้วจึงย่อยด้วยไฟแรงต่อไปอีกประมาณ 45 นาที ปล่อยให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และ 40 % สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 15 มิลลิลิตร เพื่อให้มีสภาพเป็นด่าง (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินเข้มจัด) จากนั้นประกอบเครื่องมือสำหรับกลั่นเพื่อเก็บไอของแอมโมเนีย ให้ปลายเปิดของหลอดแก้วจุ่มอยู่ในสารละลาย 2 % Boric Acid 10 มิลลิลิตร ซึ่งเติม Screened Methyl RED Indicator แล้วเริ่มกลั่นสารละลายที่ย่อยแล้วข้างต้นให้เดือดเบา ๆ เป็นเวลา 15 นาที แล้วค่อย ๆ เลื่อนคนโททรงกรวยที่บรรจุ Boric Acid จนปลายเปิดหลอดแก้วอยู่เหนือระดับสารละลายในคนโท กลั่นต่ออีก 2 นาที ล้างปลายเปิดของหลอดแก้วด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย นำสารละลายที่ได้ไปตริเตรตกับ 0.02 M., กรดไฮโดรคลอริก จนเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและโปรตีนตามลำดับ ในที่นี้ทำ 2 ชุดพร้อมกัน และทำชุดเปรียบเทียบ(Blank) ด้วย

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ในที่นี้ใช้วิธี Benedict quantitative test (8) โดยปิเปตสารละลาย Benedict quantitative reagent 25 มิลลิลิตร ลงในคนโททรงกรวยขนาด 100 มิลลิลิตร เติม Sodium carbonate 3 กรัม ใส่เศษอิฐป้องกันสารละลายเดือดรุนแรง แล้วนำไปต้มจนเดือดโดยใช้ตะเกียงบุนเสน ในขณะที่ยังเดือดอยู่หยดสารละลายตัวอย่างจากบิวเรตต์ลงไปเรื่อย ๆ เมื่อเริ่มมีตะกอนสีขาวเกิดขึ้นจึงค่อย ๆ หยดสารละลายตัวอย่างให้ช้าลงจนกระทั่งไม่มีสีน้ำเงินเหลืออยู่ อ่านบันทึกปริมาตรสารละลายตัวอย่าง และคำนวณหาปริมาตรคาร์โบไฮเดรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันอิสระ (8)

ผสมแอลกอฮอล์ 20 มิลลิกรัม กับ Diethyl Ether 20 มิลลิกรัม เข้าด้วยกัน เติม Phenolphtalim ลงไป 1 มิลลิลิตร แล้วทำให้สารละลายเป็นกลางด้วยการไตเตรทกับ 0.1 M สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ หลังจากนั้นจึงละลายสารละลายตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตรในตัวทำละลายนี้ และไตเตรทต่อไปจนได้สารละลายสีชมพูที่คงตัว

3.2.5 การวิเคราะห์องค์ประกอบกอบในน้ำดี

ในการวิเคราะห์หาแร่ธาตุพวกโซเดียม,โปตัสเซียม,คบอไรด์,ฟอสเฟต และแคลเซียม ใช้หลักการIon Specific Electrode (9) โดยเครื่อง Beckman System E 4 A Electrolyte Analyges ส่วนการวิเคราะห์หาโปรตีน ใช้เทคนิค Biuret reaction(10) ซึ่งหลักการโดยทำให้สารที่เป็นด่างด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วค่อย ๆ เติมสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตเจือจางลงที่ละหยด ถ้าสารดังกล่าวเป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยโพบีเปปไทด์จะได้สีม่วง (Violet) เกิดขึ้น ในการวิเคราะห์อัลบิวมินโดยวิธี Dye binding ด้วย Bromeresol green(9) ซึ่งหลักการ Protein indicator error ของสีใน Buffered ที่ pH 6.2 และเติมอัลบิวลงไปแล้ว Absorbancy ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นปฏิภาคโดยตรงกับความเข้มข้นของอับบิวมินในขอบเขตจำกัดระยะหนึ่ง และการวิเคราะห์ไตรกลีนเปอไรด์และโคเรสเตอรอลด้วยวิธีเอนไซม์ (Emzymatic method)(9) ของ Eggstein เมื่อ Saponify จะได้ กลีย์เซอรอลและกลีย์เซอรอบนี้จะถูก Phosphorylate โดย ATP (in the Presence of ATP Regerating System) ซึ่งทำให้อยู่ได้โดย Phosphoenol Pyruvate Degrade ไปเป็น Pyruvate และเมื่อ Reduce พัยรูเวตไปเป็นแบลคเตตโดย NADH ก็อาจจะติดตามได้ โดย Spectrophotometer และ NADH นี้ก็จะ สัมพันธ์กับความเข้มข้นของกลีย์เซอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

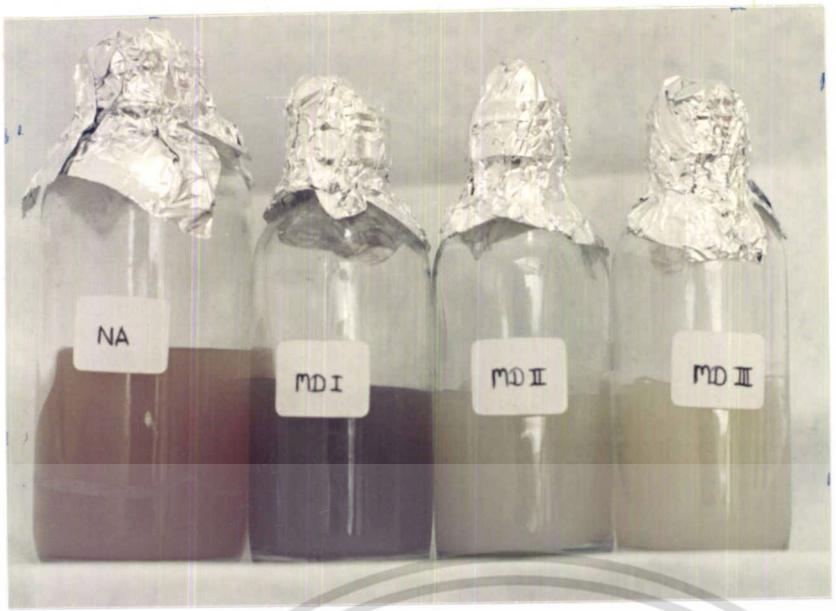
3.3 <u>การศึกษาสัดส่วนสารอาหารสกัดที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์</u>

จากการศึกษาและวิเคราะห์องค์ประกอบของสารละลายที่เตรียมข้างต้น ทำให้ทราบองค์ประกอบปริมาณแหล่งอาหารในสารละลายที่เตรียม เพื่อเป็นข้อมูลในการสร้างสูตรอาหารสังเคราะห์จากสารละลายน้ำ โดยในที่นี้อาศัยแหล่งไนโตรเจนในการสังเคราะห์สูตรอาหารโดยเปรียบเทียบกับ Nutrient Agar ดังนี้ (ตารางที่ 4)

Nutrient Agar	: Beef Extract	3	กรัม
	Peptone	5	กรัม
	Agar	20	กรัม
สูตร MD I	: สารสกัด Beef	4	มิลลิลิตร
	Yeast Atolysis	50	มิลลิลิตร
	Agar	20	กรัม
สูตร MD II	: สารสกัด Beef	4	มิลลิลิตร
	สารสกัด Brain	17	มิลลิลิตร
	Agar	20	กรัม
สูตร MD III	: สารสกัด Beef	4	มิลลิลิตร
	สารสกัด Heart	25	มิลลิลิตร
	Agar	20	กรัม

<u>ตารางที่</u> 4 : แสดงองค์ประกอบในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์และ Nutrient Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 : แสดงลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ในการเตรียมอาหารสังเคราะห์ทั้ง 4 สูตร โดยละลายวุ้น ในน้ำกลั่นขณะที่ร้อนอยู่โดยกวนตลอดเวลาและค่อย ๆ เติมสารละลายตัวอย่างแต่ละชนิดปริมาตร ดังสูตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร แล้วนำไปปรับ pH = 7.0 และฆ่าเชื้อโรคโดยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ 15 นาที

วิธีการทดลองนี้ โดยเตรียมสารละลาย จุลินทรีย์ในโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ที่ระดับความเจือจาง 10^{-7} จากสต๊อกเชื้อจุลินทรีย์ E.coli จากนั้นดูดสารละลายดังกล่าว 0.1 มิลลิลิตร ใช้จานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 5 จานด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ และเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar ที่หลอมละลายอุณหภูมิประมาณ 45 - 50 ° ซ ลงในจาน อาหารทั้ง 5 จาน ข้างต้น โดยรีบปิดฝาและหมุนจานเพาะเชื้อให้ อาหารแพร่กระจายทั่วจาน (Pour Plate Technique) ทำการทดลองซ้ำแต่เปลี่ยนจาก Nutrient agar เป็น MD I,MD II และ MD III ตามลำดับ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับ โคโลนี ที่เกิดขึ้น คำนวณแยกปริมาณเชื้อที่ได้ วิธีการทดลองเช่นเดียวกันนี้ เปลี่ยนจากเชื้อจุลินทรีย์ E.coli เป็น Staphylococus Spidermis

3.4 การศึกษาปริมาณน้ำดีที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ E.coli

จากการศึกษาสัดส่วนสารอาหารสกัดที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ข้างต้น พบว่าสัดส่วนสารอาหารสกัด สูตร MD I มีคุณสมบัติเหมาะสมในการเจริญของเชื้อ E.Coli ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงนำสัดส่วนสารอาหารสกัดสูตร MD I เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ E.Coli และเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำดีในระดับต่าง ๆ กัน เพื่อเป็นแนวทางในการสังเคราะห์ Selective Media

เตรียมอาหารสังเคราะห์สูตร MD I ปริมาตร 300 มิลลิลิตร โดยใช้เทคนิคดังกล่าวแล้ว จากนั้นแบ่งใส่คนโททรงกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใส่ขวดละ 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำดีใส่ปริมาตรขวดละ 0.1 และ 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ และขวดที่ 3 ไม่ต้องเติมน้ำดี นำไปฆ่าเชื้อโดยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ 15 นาที

เตรียมสารละลาย Suspention เชื้อ E.coli โดยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % ที่ระดับความเจือจาง 10^{-7} และใช้เทคนิค Pour Plate (ดังวิธีการทดลองที่กล่าวมาแล้ว) จากอาหารเลี้ยงเชื้อผสมน้ำดีทั้ง 3 ชนิดข้างต้น โดยทำการทดลอง 5 ครั้งต่ออาหารเลี้ยงเชื้อหนึ่งชนิด จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วตรวจนับโคโลนีที่เกิดขึ้น คำนวณหาปริมาณเชื้อที่ได้แล้วเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ในศตวรรษที่ 17 Lecuwenhock เป็นผู้ค้นพบจุลินทรีย์เป็นคนแรก จนกระทั่งถึงศตวรรษที่ 19 Paster and al. ได้ศึกษาและเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารสังเคราะห์ และพบว่า "จุลินทรีย์ทุกชนิดต้องการน้ำ , แหล่งพลังงาน , คาร์บอน , ไนโตรเจน , แร่ธาตุและวิตามิน รวมทั้งก๊าซออกซิเจนสำหรับจุลินทรีย์บางชนิด" หลังจากนั้นวงการอุตสาหกรรมเริ่มสนใจจุลินทรีย์มากขึ้น และได้ปรับปรุงพัฒนาอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีคุณภาพ โดยสิ่งที่สำคัญและสนใจพัฒนากันอย่างมาก คือ การใช้แหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งวัตถุดิบที่หาง่ายและราคาถูก ในปัญหาพิเศษนี้เป็นการศึกษาการสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อเบื้องต้นจากวัตถุดิบหาง่าย และกากอุตสาหกรรม ซึ่งวัตถุดิบที่เราใช้ในการสกัดอาหารคือ เนื้อวัว , หัวใจวัว , สมองวัว และกากตะกอนยีสต์ โดยสกัดในรูปสารละลาย พบว่ามีลักษณะดังแสดงในตารางที่ 5 และจากการวิเคราะห์สารอาหารแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ในรูปไนโตรเจน , กลูโคสและไขมัน (ตารางที่ 5)

รูปที่ 2 : แสดงลักษณะสารละลายสกัดจากวัตถุดิบต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งวัตถุดิบ	ลักษณะของสารละลายที่ได้	ปริมาณไนโตรเจน (%)	ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส mg / ml	กรดไขมันอิสระ (%)
เนื้อวัว	สีแดงอ่อน ๆ คล้ายน้ำเลือดและข้น	12.67	5.05	5.92
หัวใจวัว	สีแดงอ่อน ๆ คล้ายน้ำเลือดแต่ไม่ข้นมาก	3.76	3.96	8.29
สมองวัว	สีเขียวอ่อน ๆ อมแดง	5.17	–	2.65
กากตะกอนยีสต์	สีแดงอมน้ำตาลไหม้	1.68	7.46	
น้ำดีไก่	สีเขียวแก่อมเหลือง	–	–	–

ตารางที่ 5 : แสดงลักษณะและองค์ประกอบของสารสกัดอาหารจากวัตถุดิบหาง่าย และกากอุตสาหกรรม

จากองค์ประกอบของสารสกัดสารอาหารที่เตรียมจาก เนื้อวัว,หัวใจวัว,สมองวัว และกากตะกอนยีสต์มีคุณสมบัติที่สามารถนำเป็นแหล่งอาหารในการเลี้ยวเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจึงสังเคราะห์สูตรอาหารจากแหล่งสารอาหารหลักที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (ตารางที่ 4) โดยเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ E.coli และ S . epidermidis และเปรียบเทียบกับอาหาร Nutrient Agar โดยเทคนิค Pour Plate และบ่มที่อุณหภูมิ 37 ° ซ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์ พบว่าความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งสองในอาหารเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อสังเคราะห์ทั้งสามเมื่อเปรียบเทียบกับ Nutrient Agar ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 6 , 7 , 8 และ 9

ชนิดอาหาร	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ S .epidermidis (เซลต่อมิลลิลิตร)	ลักษณะโคโลนี
Nutrient Agar	3.72×10^9	โคโลนีสีขาวนูน ขนาด 1 - 1.5 มิลลิเม
MD I	3.58×10^9	โคโลนีสีขาวนูน ขนาด 0.5 - 1.5 มิลลิเม
MD II	4.52×10^9	โคโลนีสีขาวนูน ขนาด 0.3 - 1.5 มิลลิเม
MD III	3.56×10^9	โคโลนีสีขาวนูน ขนาด 0.1 - 1.5 มิลลิเม

ตารางที่ 6 : แสดงค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ S .epidermidis บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์และอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F
Amony Treatments	3	311.5	103.78	2.56
Within Treatments	16	647.60	40.475	
Total	19	958.95	144.255	

F. 05 (3,16) = 3.24 F. 01 (3,16) = 5.29

ตารางที่ 7 : แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญของเชื้อ S . epidermidis บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดอาหาร	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ E.coli (เซลต่อมิลลิลิตร)	ลักษณะโคโลนี
Nutrient Agar	3.72×10^9	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 - 2 มิลลิเมตร
MD I	3.58×10^9	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 - 3 มิลลิเมตร
MD II	4.52×10^9	โคโลนีใสเยิ้มตรงกลางขาว 0.5 - 1 มิลลิเมตร
MD III	3.56×10^9	โคโลนีใสเยิ้มตรงกลางขาว 0.5 - 1 มิลลิเมตร

ตารางที่ 8 : แสดงค่าเฉลี่ยการเจริญของเชื้อ E.coli บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์และอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

Source	df	SS	MS	F
Amony Treatments	3	330.5	110.18	0.29
Within Treatments	16	6118.60	382.40	
Total	19	6448.95	492.58	

F. 05 (3,16) = 3.24 F .01 (3,16) = 5.29

ตารางที่ 9 : แสดงค่าวิเคราะห์ทางสถิติการเจริญของเชื้อ E.coli บนอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหาร Primary Isolation Media for Recovery of Entero bacteriaceae (7) โดยใช้ Maclonhey agar พบว่า Bile salt มีความสามารถในการยับยั้งความเจริญของ gram - positive bacteria and some fastidious gram - negative bacteria ดังนั้นจากสมมุติฐานน้ำดีจึงน่าจะมีผลยับยั้งจุลินทรีย์ E.coli ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ การสกัด สารจากถุงน้ำดีก่พบว่ามีลักษณะเป็นสีเขียวแก่อมเหลือง (ตารางที่ 5) และการวิเคราะห์ องค์ประกอบในน้ำดีมีส่วนประกอบต่าง ๆ โปรตีน , ไขมัน และแร่ธาตุต่าง ๆ (ตารางที่ 10)

องค์ประกอบในน้ำดี	ปริมาณ	
Sodium Ion	137	มิลลิโมลต่อลิตร
Potassium Ion	34.8	มิลลิโมลต่อลิตร
Chrolide Ion	27	มิลลิโมลต่อลิตร
Calcium Ion	34	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
Inorganic Phosphate	28.6	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
Total Protein	21.2	กรัมต่อลิตร
Albumin	11.5	กรัมต่อลิตร
Triglycerol	2135	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร
Cholgstgrol	101	มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

ตารางที่ 10 : แสดงค่าวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำดี

จากการทดลองข้างต้นพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ E.coli ที่เพาะเลี้ยงในสูตรอาหาร MD I มีลักษณะโคโลนีที่เจริญใกล้เคียงกับ Nutrient agar (รูปที่ 3)จึงเลือกอาหารสังเคราะห์ MD I มาผสมกับน้ำดีจากไก่ในจำนวน 0.1 และ 0.2 % โดยปริมาตร และเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ E.Coli บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง จากการวิเคราะห์พบว่า ปริมาณน้ำดีที่ระดับ 0.2 % มีผลยั้งยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ E.coli ได้ถึง 42.9 % เมื่อเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ที่ไม่ผสมน้ำดี(ตารางที่ 11) ดังนั้น จากปัญหาพิเศษครั้งนี้ จึงเป็นแนวทางศึกษาเบื้องต้นในการสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ เพื่อพัฒนาปรับปรุงในการสังเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้มาตรฐานในอนาคต จึงเป็นการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบหาง่ายและกากอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์คุ้มค่ายิ่ง

ชนิดอาหาร	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ E.Coli (เซลต่อมิลลิลิตร)	ลักษณะโคโลนี
Nutrient Agar	1.92×10^9	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 – 2 มิลลิเมตร
MD I	1.98×10^8	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 – 3 มิลลิเมตร
MD I+น้ำดี 0.1 มิลลิลิตร	1.66×10^9	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 – 3 มิลลิเมตร
MD I+น้ำดี 0.2 มิลลิลิตร	1.13×10^8	โคโลนีสีน้ำตาลอ่อนเยิ้ม 1 – 3 มิลลิเมตร

ตารางที่ 11 : แสดงความแตกต่างของการเจริญเติบโตของ E.coli ในอาหารที่ผสมน้ำดีต่างกัน

บทสรุป

ในการสกัดสารอาหารที่จำเป็นในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ จากเนื้อวัว , หัวใจวัว ,สมองวัว และตะกอนยีสต์ ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่หาง่าย และเป็นกากอุตสาหกรรมเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และแหล่งวิตามิน การสกัดสารอาหารจากวัตถุดิบที่หาง่ายจำพวก เนื้อวัว , หัวใจวัว และสมองวัว สามารถสกัดได้โดยวิธีที่ง่ายและสดวก เหมาะสมกับเครื่องมือและเทคโนโลยีในประเทศ ซึ่งเครื่องมือที่ใช้คือ เครื่องตีปั่นและเครื่องเหวี่ยงตกตะกอน และการสกัดสารที่เตรียมได้จากวัตถุดิบ และกากอุตสาหกรรมดังกล่าวมีปริมาณสารอาหารพอเพียงในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์ และเมื่อเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ E.coli และ S . Epidermidis โดยเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มาตรฐาน พบว่า ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ

Bile salt มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก และแกรมลบ บางชนิด ซึ่ง Bile salt เป็นส่วนประกอบในน้ำดีที่เป็นกากเหลือใช้ในอุตสาหกรรมฆ่าสัตว์ปีก ดังนั้น การนำน้ำดีมาผสมเพื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคุณสมบัติในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์บางชนิด (selective media) จึงเป็นการนำกากเหลือใช้มาใช้ให้เกิดประโยชน์คุ้มค่า โดยนำดีไก่มาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์ MD I ที่ระดับความเจือจาง 0.2 % โดยปริมาตร พบว่า มีความสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย E.coli ลดลงถึง 42.9 %

จากปัญหาพิเศษครั้งนี้ เป็นแนวทางในการพัฒนาและสังเคราะห์อาหาร Selective Media ที่ได้มาตรฐาน ทัดเทียมอาหารเลี้ยงเชื้อจากต่างประเทศในอนาคต ซึ่งเป็นการช่วยประหยัดเงินตราในการสั่งซื้อสินค้าจากต่างประเทศได้

MD II MD I

รูปที่ 3 : แสดงลักษณะโคโลนี E . coli เปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์ MD I และ MD II

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนังสืออ้างอิง

1. ชะอรสิน สุชศรีวงค์ " สถิติผู้ป่วยอุจจาระร่วง " การฟื้นฟูวิชาการ ครั้งที่ 7 การใช้ยาในโรคทางเดินอาหาร คณะเภสัชศาสตร์,มหาวิทยาลัยมหิดล,2524.
2. หวานจิตต์ เถรันพงศ์ Staphylococcus แบคทีเรียทางการแพทย์ , (โสภณ คงสำราญและคณะ) พิมพ์ครั้งที่ 1 หน้า 114 - 141 . โครงการตำรา-ศิริราช , กรุงเทพฯ , 2524
3. โสภณ คงสำราญ Enterobacteriaceae แบคทีเรียทางการแพทย์ พิมพ์ครั้งที่ 1 หน้า 299 - 323 . โครงการตำรา-ศิริราช , กรุงเทพฯ , 2524
4. สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูนศิริ Aerobic Gram Positive Cocci จุลชีววิทยาทางการแพทย์ (นรีกุล สุระพัฒน์ และคณะ) พิมพ์ครั้งที่ 3 หน้า 64 - 88 . สำนักพิมพ์ กรุงเทพเวชสาร , กรุงเทพฯ ,2529
5. DJA Cole and RA Lawrie Meat pp 289 Elmsford , New York , 1974.
6. A.H. Rose Yeast Extracts Economic Microbiology Vol 7 pp 293 - 312 . Academic Press , New York
7. Koneman , Allen , Dowell and Sommers The Enterobacteriaceae Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology 1st ed. pp 63 Philadelphia. Toronto 1979
8. กฤษณา รุ่งเรืองศักดิ์ และ ม.ร.ว. ชิษณุสรร สวัสดิวัตน์ ปฏิบัติการและหลักเบื้องต้นในวิชา ชีวเคมี พิมพ์ครั้งที่ 1 หน้า 88 - 89 , 125 - 127 ,297 - 300 . โครงการตำรา - ศิริราช , กรุงเทพฯ , 2521
9. วีกุล วีรานุวัตติ์ และ กนกนาถ ชูปัญญา เคมีคลินิค พิมพครั้งที่ 1 หน้า 190 - 191 , 279 , 476 - 477 . โครงการตำรา-ศิริราช , กรุงเทพฯ , 2520
10. บุญยืน สาริกะภูติ สมบัติทางเคมีของเปบไทด์ โปรตีน พิมพ์ครั้งที่ 1 หน้า 71 - 72 คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
11. John C. Forrest , Elton D. Aberle , Hardd B Hedrick , Max D

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Judge and Robert A Merket Nutrtive Value Principle of Meat Science pp 306 - 315 . San Francisco

12. G.M. Dunn Nutritional Requirements of Microorganisms. Comprehensive Biotechnology. VOL 1 pp 113 - 126 Pergamon Press ,Oxford , New York 1985

13. Robert K. Scoper Manipulation of Protein Solution Protein Porification Principles and Practice pp 14 - 34

14. Peter F. Stanbury and Allan Whitaker. Media for Industrial Fermentations Principle of Fermentation Technology pp 74 - 90 , Perga monpres. 1984

15. พิไลพรรณ พงษ์พูล และบัญญัติ สุขศรีงาม จุลชีววิทยา เล่มที่ 1 หน้า 296 - 333 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน ชลบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายพิชัยยุทธิ์ เตชะพงษ์ เกิดวันที่ 31 มีนาคม พ.ศ. 2509 กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น โรงเรียนเทพศิรินทร์ เมื่อปี พ.ศ. 2525 และมัธยมปลาย สายวิทยาศาสตร์อุตสาหกรรม โรงเรียนเทพศิรินทร์ เมื่อปี พ.ศ. 2527 ในปีเดียวกัน เข้าศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษา ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ เมื่อปี พ.ศ. 2529 ได้รับเลือกตั้งเป็นนายกสโมสรนักศึกษาคณะฯ และเป็นตัวแทนนักศึกษาไปศึกษาดูงาน Science Center และ National University of Singapore ณ. ประเทศสิงคโปร์ ขณะนี้กำลังศึกษาอยู่ชั้นปีที่ 4 ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้