

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

#### สรุปผล

1. ได้แยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก จากแหล่งนํ้านมดิบของกลุ่มเกษตรกรผู้ผลิตนมดิบรายย่อยเชียงใหม่และเชียงราย 3 แห่ง ได้แก่ ตัวอย่างนํ้านมดิบจากสมาชิกโรงงานนม อสค. ห้วยแก้ว เชียงใหม่ 3 ราย คือ จากผู้ผลิตรายย่อย (เชียงใหม่) รหัส 7010, ผู้ผลิตรายย่อย (เชียงใหม่) รหัส 7021, และผู้ผลิตรายย่อย (เชียงใหม่) รหัส 7009, สหกรณ์โคนมแม่ลาว, สหกรณ์โคนมแม่ใจ, และ สหกรณ์โคนมสันป่าตอง - แม่วาง บน MRS agar ได้จำนวน 20 ไอโซเลท โดยแยกเชื้อที่ 44 องค์กรเซลล์
2. นำแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกนี้ไปแยกแบคทีเรียโอฟาจได้ 17 ไอโซเลทที่ 44 องค์กรเซลล์
3. การทดสอบความต้านทานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกต่อแบคทีเรียโอฟาจโดยวิธี spot test พบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่ทนต่อฟาจมากที่สุด ได้แก่ IMJ (FSCMU 44-10) รองลงมาคือ *Lb. bulgaricus* TISTR 895 (FSCMU 40-50)
4. ผลของฟาจที่มีความสามารถสลายเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกได้มากที่สุด ได้แก่  $\phi$ FSCMU 40-061(3.2 ของ F7010 (40))
5. ผลการวินิจฉัยด้วย Sequencing technique พบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 18 ไอโซเลท เป็น *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* ทุก isolate
6. การศึกษา การย่อยสลาย Arginine และศึกษาความสามารถในการ Oxidized และ Fermented น้ำตาล ของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่างนํ้านมดิบจาก เกษตรกรรายย่อย รหัส 7009 เชื้อ B เกษตรกรรายย่อย รหัส 7021 เชื้อ A, B,D,L จากสหกรณ์โคนมแม่ใจ เชื้อ B, C, F, G, I, J, a จากสหกรณ์โคนมสันป่าตอง- แม่วาง เชื้อ B, C, E, F, R, c, h, i พบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกของตัวอย่างนํ้านมดิบจากสหกรณ์โคนมแม่ใจ เชื้อ I ไม่สามารถย่อยสลาย Arginine ได้ และพบว่าเป็น *E. faecium* 9 ไอโซเลท, *E. faecalis* 3 ไอโซเลท และ *E. durans* 5 ไอโซเลท

7. ผลการวินิจฉัยด้วย ชุดทดสอบ API 20 Strep และ ชุดทดสอบ API 50 CHB พบว่าเป็น *E. faecium* 5 ไอโซเลท *Leuconostoc* spp 1 ไอโซเลท *Lb. plantarum* 1 ไอโซเลท *Lb. cremoris* 1 ไอโซเลท

8. ผลการศึกษาความสามารถในการใช้กรดอะมิโน Lysine, Tyrosine, Histidine, และ Tryptophan ของเชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์จากตัวอย่างน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมสันป่าตอง-แม่วาง เชื้อ h, B, จากสหกรณ์โคนมแม่ใจเชื้อ C, I, จากเกษตรกรรายย่อย รหัส 7021 เชื้อ L, จากเกษตรกรรายย่อย รหัส 7009 เชื้อ B, *Lb. acidophilus* TISTR 1034, *Lb. bulgaricus* TISTR 326, *Lb. bulgaricus* TISTR 892, *Lb. bulgaricus* TISTR 895, *L. lactis* TISTR 785, *Lb. salivarius* TISTR 1112, *E. faecalis* TISTR 1482, *E. faecium* TISTR 1283, *S. thermophilus* TISTR 458, และ *S. thermophilus* TISTR 894 พบว่าตัวอย่างน้ำนมดิบจากเกษตรกรรายย่อย รหัส 7021 เชื้อ L และ *Lb. bulgaricus* TISTR 892 สามารถใช้ กรดอะมิโน Tyrosine ได้ ซึ่งตัวอย่างน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมแม่ใจเชื้อ I ซึ่งเป็นเชื้อที่คาดว่าน่าจะทนต่อแบคทีริโอฟาจามากที่สุด ไม่สามารถใช้กรดอะมิโนได้ จึงเหมาะที่จะใช้กับอุตสาหกรรมนม

9. การศึกษาการสร้างกรดในทางนมขาดมันเนยร้อยละ 10 และความสามารถในการสร้างสารประกอบพวก acetyl-methyl carbinol เชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์ที่นำมาศึกษาสามารถสร้างกรด และปริมาณกรดเพิ่มขึ้นและสูงขึ้นมาก เมื่อระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง และสามารถสร้างสารประกอบพวก acetyl-methyl carbinol ในทางนมเข้มข้นร้อยละ 10 ได้ ยกเว้นเชื้อ *Lactobacillus* สายพันธุ์ต่าง ๆ ที่เป็นเชื้อมาตรฐาน

10. เชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์ที่นำมาศึกษาการเจริญเติบโตและการสร้างกรด คือ เชื้อ IMJ (44) และ h สด (44) ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำนมดิบของสหกรณ์โคนมแม่ใจและสหกรณ์โคนมสันป่าตอง - แม่วาง ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของเชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์ที่มีความทนและไม่ทนต่อแบคทีริโอฟาจตามลำดับ และเชื้อ *S. thermophilus* TISTR 894 และ *Lb. bulgaricus* TISTR 895 จะเห็นได้ว่าฟาจของ F7010 (40) 3.2 (ΦFSCMU 40-061) ทำลายแบคทีเรียได้จริง โดยทำให้จำนวนเซลล์และความเป็นกรดลดลง แต่ไม่มีผลต่อ *Lb. bulgaricus* TISTR 895 เชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์ของตัวอย่างน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมแม่ใจ มีความทนต่อฟาจมากกว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตภัณฑ์ของตัวอย่างน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมสันป่าตอง - แม่วาง รหัส h

เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่าง *Lb. bulgaricus* TISTR 895 มีความทนต่อฟาจมากกว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่าง *S. thermophilus* TISTR 894 และเมื่อนำมานับปริมาณ plaque ของฟาจพบว่าปริมาณฟาจจากเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกของตัวอย่างน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมแม่โจ้ รหัส I น่าจะทนต่อฟาจของ F7010 (40) 3.2 (ΦFSCMU 40-061) มากที่สุด

11. แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกทั้ง IMJ และ hst ได้รับการวินิจฉัยจากชุดทดสอบ API Strep20 เป็น *Leuconostoc* spp. ทั้งสองสายพันธุ์

12. ฟาจของ F7010(40)3.2(ΦFSCMU40-061) เป็นแบคทีริโอฟาจที่แยกได้จากแบคทีเรียจากน้ำนมดิบของผู้ผลิตรายย่อยของสมาชิกโรงงานนม อสก. ห้วยแก้ว เชียงใหม่ ได้รับการวินิจฉัยเป็น *E. faecium* (FSCMU40-061) เป็นฟาจที่ย่อยสลายแบคทีเรียได้หลายสายพันธุ์ เหมาะที่จะนำไปใช้ศึกษาเป็น vector ใช้ส่งถ่ายยีนส์ที่มีประโยชน์ในทางการแพทย์ได้ (Douglas, 1975)

13. แบคทีเรีย IMJ หรือ *Leuconostoc* spp. (FSCMU44-10) ที่แยกได้จากน้ำนมดิบจากสหกรณ์โคนมแม่โจ้รหัส I จัดเป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติสำหรับเป็นก้ำเชื้อตั้งต้นเพื่อใช้ทำผลิตภัณฑ์นมแปรรูปได้ดีสายพันธุ์หนึ่ง เนื่องจากมีคุณสมบัติสร้างกรดได้ดี สร้างกลิ่นที่ให้รสชาติเฉพาะ (diacetyl) ของผลิตภัณฑ์นมได้ ไม่สร้างสาร tyramine (ซึ่งเป็นสารทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์นมเสีย) จากกรดอะมิโน tyrosine และสามารถมีความต้านทานต่อแบคทีริโอฟาจได้ดีพอสมควร

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยขั้นต่อไป

1. ควรทำการวินิจฉัยเชื้อ *Leuconostoc* spp. (FSCMU44-10) จนถึงระดับ species และ สายพันธุ์ และทดลองใช้แปรรูปผลิตภัณฑ์นมที่อุณหภูมิ ต่ำกว่า 44 องศาเซลเซียส และในนมที่มีของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น อาจทำให้เพิ่มอัตราการสร้างกรดเร็วขึ้น

2. ควรวินิจฉัยแบคทีริโอฟาจให้ถึงระดับ family โดยดูรูปร่างจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และควรศึกษาคุณลักษณะของดีเอ็นเอ ซึ่งอาจจะนำไปใช้ประโยชน์ต่อ ยอดต่อไป

3. ควรทำการวิจัยทดสอบแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและแบคทีเรียโอฟาจที่แยกได้จากโครงการนี้ ซึ่งแยกไว้เป็นจำนวนมาก ได้ใช้เวลาสิ้นเปลืองมากสำหรับขั้นตอนนี้ เพื่อทดสอบคัดเลือกหาคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับผลิตผลิตภัณฑ์นม จะได้มีกล้าเชื้อคุณภาพแตกต่างกันหลายชนิด เพื่อใช้ประโยชน์จากการใช้กล้าเชื้อผสมตามวัตถุประสงค์ต่างๆ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved