

การคัดแยกแบคทีเรียจำนวน 302 สายพันธุ์ จากนํ้านมดิบจำนวน 43 ตัวอย่างที่เก็บในเขต จังหวัดเชียงใหม่ พบว่า มีแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus fermentum* RMM701, *Streptococcus bovis* RMM703 และ *Streptococcus bovis* RMM902 สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินยับยั้งแบคทีเรีย *Streptococcus dysgalactiae* DMST10953 ซึ่งเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเต้านมอักเสบในโคนมได้ โดยแบคทีเรียโอซินมีค่ากิจกรรมการยับยั้งเท่ากับ 40, 40 และ 20 AU/ml ตามลำดับ แบคทีเรียโอซินที่ผลิตได้จากแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ สามารถทนต่อความร้อนได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที แบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรีย *L. fermentum* RMM701 และ *S. bovis* RMM902 สามารถทนพีเอชได้ในช่วง 2.0-7.0 ส่วนแบคทีเรียโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรีย *S. bovis* RMM703 สามารถทนพีเอชได้ในช่วง 2.0-6.0 และกิจกรรมการยับยั้งของแบคทีเรียโอซินดังกล่าวข้างต้นถูกทำลายได้โดยเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยโปรตีน เช่น proteinase K และ subtilisin A จากการทดสอบหาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียโอซินของแบคทีเรีย *S. bovis* RMM703 พบว่าแบคทีเรียนี้สามารถผลิตแบคทีเรียโอซินที่มีค่ากิจกรรมการยับยั้งสูงสุดเท่ากับ 320 AU/ml ในอาหาร MRS คัดแปลงที่ประกอบด้วย maltose เข้มข้น 1 % (w/v), peptone เข้มข้น 0.5 % (w/v), yeast extract เข้มข้น 0.5 % (w/v), K_2HPO_4 เข้มข้น 0.1 % (w/v), $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ เข้มข้น 0.1 % (w/v), Na-acetate เข้มข้น 0.5 % (w/v), $(NH_4)_2$ citrate เข้มข้น 0.2 % (w/v), $MnSO_4 \cdot H_2O$ เข้มข้น 0.004 % (w/v) และ Tween 80 เข้มข้น 0.1 % (w/v) โดยมีพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.0 บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ นาน 14 ชั่วโมง เมื่อทำให้แบคทีเรียโอซินบริสุทธิ์บางส่วนโดยตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และ gel filtration ทำให้แบคทีเรียโอซินมีค่ากิจกรรมจำเพาะเพิ่มขึ้นประมาณ 163 เท่า และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 16.0 kDa

A total of 302 bacterial strains were isolated from 43 raw milk samples from dairy farms in Chiang Mai province, from out of which, only three bacterial strains were found to produce bacteriocins against *Streptococcus dysgalactiae* DMST10953, a bovine mastitis pathogen. These bacteria included *Lactobacillus fermentum* RMM701, *Streptococcus bovis* RMM703 and *Streptococcus bovis* RMM902 which exhibited bacteriocin activities at 40, 40 and 20 AU/ml, respectively. Bacteriocins produced by these three strains were heat stable at the highest temperature of 80 °C for 60 minutes. Bacteriocins produced by *L. fermentum* RMM701 and *S. bovis* RMM902 were stable at pH range of 2.0 to 7.0 while bacteriocin from *S. bovis* RMM703 was stable at pH range of 2.0 to 6.0. These bacteriocins were also found to be inactivated by proteolytic enzymes such as proteinase K and subtilisin A. Further results showed that *S. bovis* RMM703 displayed the highest bacteriocin activity (320 AU/ml) when grown in modified MRS medium that contained 1.0 % (w/v) maltose as carbon source, 0.5 % (w/v) peptone and 0.5 % (w/v) yeast extract as nitrogen source, 0.1 % (w/v) K₂HPO₄, 0.1 % (w/v) MgSO₄·H₂O, 0.5 % (w/v) Na-acetate, 0.2 % (w/v) (NH₄)₂ citrate, 0.004 % (w/v) MnSO₄·H₂O and 0.1 % (w/v) Tween 80, with initial pH of 6.0 and incubated anaerobically at 40 °C for 14 hours. In addition, when bacteriocin was partially purified by ammonium sulfate precipitation and gel filtration results showed a 163-fold increase in specific activity of this bacteriocin and a molecular weight of about 16.0 kDa.