ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ ผลของยูวีและเอ็นทีจีต่อการผลิตกรดแลคติคของแบคทีเรียแลคติคโดยใช้แป้งเป็นสับสเตรท

ชื่อผู้เขียน นางสาวธัญธิกา เพ็ญหทัยกุล

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ
อาจารย์ ดร. นฤมล ทองไว กรรมการ
อาจารย์วสุ ปฐมอารีย์ กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการทดลองแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติคที่สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45°C จากตัวอย่างอาหารหมักดองจากพืชและสัตว์ หญ้าหมัก ผักและผลไม้ และนมและผลิตภัณฑ์รวมทั้งหมด 150 ตัวอย่าง โดยใช้อาหาร de Man Rogosa Sharpe (MRS) และ M17 ที่มี bromocresol green เป็นอินดิเคเตอร์ และอาหาร MRS ที่มี 2% soluble starch (w/v) เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งมี bromocresol purple เป็นอินดิเคเตอร์ สามารถแยกเชื้อได้ทั้งสิ้น 120 ไอโซเลท แบ่งเป็น cocci 95 ไอโซเลทและ bacilli 25 ไอโซเลท ทั้ง 120 ไอโซเลทสามารถเจริญได้บนอาหารแข็ง MRS และ JP2 ที่มี soluble starch เป็นแหล่งคาร์บอนแทน glucose เมื่อนำมาทดสอบบนอาหารแข็ง homofermentative-heterofermentative differential (HHD) จัดเป็น homofermentative 5 ไอโซเลท เชื้อไอโซเลท LABc040 บ่งบอกชนิดว่าเป็น *Pediococcus* sp. ผลิตกรดแอลแลคติคได้สูงสุดเท่ากับ 4.39 g/l ในอาหารเหลวที่มีแป้งเป็นสับสเตรท และเชื้อไอโซเลท LABc072 บ่งบอกชนิดว่าเป็น *Pediococcus* sp. ผลิตกรดแอลแลคติคในอาหารเหลว MRS ที่มี glucose เป็นสับสเตรทได้สูงสุดเท่ากับ 29.49 g/l วิเคราะห์ปริมาณกรดโดยวิธี HPLC เทียบกับกรดแอลและดีแลคติคมาตรฐานความเข้มข้น 0.1%

การชักนำให้เกิดการกลายของ *Pediococcus* sp. LABc040 ด้วยยูวีและเอ็นทีจี พบว่า เมื่อ treat ด้วยยูวี เป็นเวลา 30 วินาที เซลล์มีชีวิตรอด 2.5% และ treat ด้วยเอ็นทีจีความเข้มข้น 2,000 µg/ml เซลล์มีชีวิตรอด 3.6% ตรวจสอบการสร้างกรดแลคติคในรูปกรดรวมจากแป้งโดยเซลล์ *Pediococcus* sp. LABc040 ที่ผ่านการฉายยูวีและผ่านเอ็นทีจีแล้ว ยังไม่พบสายพันธุ์กลายที่สร้างกรดรวมได้สูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม

เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติคในรูปกรดรวมโดยวิธีไตเตรท พบว่า *Pediococcus* sp. LABc040 ผลิตกรดสูงสุดในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย glucose 2% (w/v), K_2HPO_4 0.2% (w/v), sodium acetate 0.5% (w/v), $MgSO_4.7H_2O$ 0.02% (w/v), $MnSO_4.H_2O$ 0.004% (w/v), tween 80 0.1% (v/v) และ yeast extract 6.4% (w/v) pH 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5% (v/v) และไอโซเลท LABb015 บ่งบอกชนิดว่าเป็น *Bacillus* sp. ผลิตกรดสูงสุดในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย glucose 4% (w/v), K_2HPO_4 0.2% (w/v), sodium acetate 0.5% (w/v), $MgSO_4.7H_2O$ 0.02% (w/v), $MnSO_4.H_2O$ 0.004% (w/v), tween 80 0.1% (v/v) และ yeast extract 6.4% (w/v) pH 6.7 บ่มที่อุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณเชื้อตั้งต้น 5% (v/v)

Thesis Title	Effect of UV and NTG on Lactic Acid Production by Lactic Acid Bacteria Utilizing Starch as Substrate
Author	Miss Tantika Penhataikul
M.S.	Biology

Examining Committee

Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Chairperson
Lect. Dr. Narumol Thongwai	Member
Lect. Wasu Pathom-aree	Member

Abstract

Isolation of lactic acid bacteria from several fermented food from plant and animal, silage, vegetables and fruits, milk and milk product by using de Man Rogosa Sharpe (MRS) and M17 media containing bromocresol green as an indicator and MRS with 2% soluble starch (w/v) as carbon source containing bromocresol purple as indicator and incubated at 45°C were carried out. A total of one hundred and twenty isolates were obtained from 150 samples. There were 120 isolates utilized starch as C-source instead of glucose on MRS and JP2 agar. By using homofermentative-heterofermentative differential (HHD) medium, it could identity five homofermentative isolates.

The result from HPLC analysis compare with 0.1% D(-) and L(+) lactic acid standard was shown that isolate LABc040 identified as *Pediococcus* sp. produced the highest yield of L(+) lactic acid, 4.39 g/l, when using starch base medium and isolate LABc072 identified as

Pediococcus sp. produced the highest yield of L(+) lactic acid, 29.49 g/l, when using glucose base medium.

Strain improvement of *Pediococcus* sp. LABc040 for lactic acid production from starch was carried out by induced mutation using UV and NTG. There was 2.5% and 3.6% survival when treated for 30 seconds of UV and 2,000 μg/ml of NTG, respectively. Mutant which gave high lactic acid as total acid production have not been detected from *Pediococcus* sp. LABc040 in this experiment.

Optimization condition for producing the total acid using titration method found that *Pediococcus* sp. LABc040 produced the highest yield in medium containing glucose 2% (w/v), K_2HPO_4 0.2% (w/v), sodium acetate 0.5% (w/v), $MgSO_4.7H_2O$ 0.02% (w/v), $MnSO_4.H_2O$ 0.004% (w/v), tween 80 0.1% (v/v) and yeast extract 6.4% (w/v), pH 5.5, after 48 hours of incubation at 40°C with 5% (v/v) inoculumn and isolate LABb015 identified as *Bacillus* sp. found that when cultured 5% (v/v) inoculumn into the medium containing glucose 4% (w/v), K_2HPO_4 0.2% (w/v), sodium acetate 0.5% (w/v), $MgSO_4.7H_2O$ 0.02% (w/v), $MnSO_4.H_2O$ 0.004% (w/v), tween 80 0.1% (v/v) and yeast extract 6.4% (w/v), pH 6.7, after 24 hours of incubation at 40°C.