

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่สำคัญคือ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียโอซินจาก น้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน และ การทำแบคทีเรียโอซินให้บริสุทธิ์ จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต แบคทีเรียโอซินโดยใช้เชื้อ *Pediococcus* KCU170 ในน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (v/v) และปริมาณกลีเซอรีนเริ่มต้นที่ 1, 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) สภาวะการผลิตที่ 45 องศา เซลเซียส แบบไม่เขย่า พบว่า ในทุกความเข้มข้นของน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานมีการผลิตแบคทีเรียโอซินที่มีค่ากิจกรรม สูงสุด 800 AU ml⁻¹ ต่อเชื้อทดสอบ *Pediococcus pentosaceus* TISTR 423 เมื่อพิจารณาผลได้ของกรดแลกติกที่ เชื้อผลิตขึ้น พบว่า เมื่อใช้น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาณกลีเซอรีนตั้งต้น 1, 2, 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) เท่ากับ 0.926, 0.926, 0.933 และ 0.909 กรัมของกรดแลกติกต่อกรัมของน้ำตาลที่ถูกใช้ ซึ่งค่า ผลได้ของกรดที่ความเข้มข้นดังกล่าวเป็นค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานความเข้มข้นอื่นๆ สำหรับการศึกษานี้แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตแบคทีเรียโอซินจากน้ำคั้นข้าวฟ่างหวาน โดยใช้ แหล่งไนโตรเจนที่ต่างกัน 4 ชนิด ได้แก่ ยีสต์สกัด เพปโตน แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไนเตรท พบว่า ใน ชุดทดสอบที่ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน ให้ค่ากิจกรรมของแบคทีเรียโอซินสูงสุด เท่ากับ 1,600 AU ml⁻¹ ผลได้ของกรดแลกติก 0.955 กรัมของกรดที่ผลิตขึ้นต่อกรัมของน้ำตาลที่ถูกใช้ ซึ่งเป็นค่าสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับ แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น ยีสต์สกัดจึงเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแบคทีเรียโอซินจากน้ำคั้น ข้าวฟ่างหวานและถูกนำมาใช้เพื่อศึกษาปริมาณและค่า C:N ที่เหมาะสม โดยใช้ยีสต์สกัด 5, 10, 20 และ 50 กรัมต่อ ลิตร พบว่า เมื่อใช้ยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร ในน้ำคั้นข้าวฟ่างหวานเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ให้กิจกรรมของ แบคทีเรียโอซินสูงสุด 1,600 AU ml⁻¹ ในช่วงเวลาที่ 8 ของการหมัก ผลได้ของกรด เท่ากับ 0.283 ได้ค่า C:N เท่ากับ 8.5:1 ดังนั้น ยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร จึงเป็นปริมาณที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิตแบคทีเรียโอซินจากน้ำคั้น ข้าวฟ่างหวาน

เมื่อนำน้ำหมักมาทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนโปรตีนโดยใช้ 80 เปอร์เซ็นต์ (w/v) แอมโมเนียมซัลเฟต พบว่า ค่ากิจกรรมของแบคทีเรียโอซินเพิ่มเป็น 3,600 AU ml⁻¹ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมัก เริ่มต้น มีปริมาณโปรตีน 2.746 mg ml⁻¹ จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโตกราฟีแบบ แลกเปลี่ยนประจุ พบว่า กิจกรรมของแบคทีเรียโอซินลดลงเป็น 200 AU ml⁻¹ ปริมาณโปรตีน 0.063 mg ml⁻¹ เมื่อนำมาศึกษาน้ำหนักโมเลกุลโดยวิธี SDS-PAGE แบคทีเรียโอซินที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์ เพิ่มขึ้น และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 6 กิโลดาลตัน

การศึกษาแบคทีเรียโอซินต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* TISTR423 ได้ พบว่าปริมาณต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญได้ คือ 0.5 มิลลิกรัม (180 AU ml⁻¹) จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า น้ำคั้นข้าวฟ่างหวานสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตแบคทีเรียโอซินได้

The purposes of this experiment were study the optimal concentration of Sweet sorghum and inoculum size of *Pediococcus* KKU 170 for bacteriocin production from Sweet sorghum under batch condition. The result showed that the optimal concentration of Sweet sorghum juice was 12.5 percents (v/v) which showed 800 AU ml⁻¹ of maximum bacteriocin activity, lactate yield was 0.926 grams of lactate per gram of sugar consumed. This concentration exhibited the maximum yield when compared to other concentrations. Bacteriocin production from Sweet sorghum supplemented with various nitrogen sources was also studied. The experiment showed that Yeast extract was the best nitrogen source when being compared to peptone, ammonium sulphate and ammonium nitrate. The result showed that yeast extract yielded maximum bacteriocin activity at 1,600 AU ml⁻¹ and lactate yield at 0.955 gram of lactate per gram of sugar consumed. The quantities of the appropriate nitrogen source with C:N ratio were studied. The result showed that 10 g l⁻¹ of yeast extract gave the maximum activity of bacteriocin at 1,600 AU ml⁻¹ which was the highest activity and that was obtained at 8 hours of fermentation. The yield of produced lactate was 0.283, C:N ratio was 8.5:1.

Bacteriocin solution was partially purified by 30 percents (w/v) ammonium sulphate precipitation followed by anion exchange chromatography. After precipitation step, the maximum activity of bacteriocin was 3,600 AU ml⁻¹ with 2.746 mg ml⁻¹ protein and specific activity at 1311.00 AU mg⁻¹ were obtained. However, bacteriocin activity and protein quantity were decreased to 200 AU ml⁻¹ and 0.063 mg ml⁻¹ respectively after purified by anion exchange chromatography. The SDS-PAGE of the active fractions resulted in a single band with estimated molecular mass of about 6.0 kDa. The minimal dose of bacteriocin was also examined. The result showed that minimum dose of bacteriocin was 180 AU ml⁻¹. These results demonstrated that Sweet sorghum juice had the potential for using as the raw material for bacteriocin production.