

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การคัดเลือกแบคทีเรียจากถั่วเน่าที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการย่อยแป้ง

แหล่งทุน งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 80,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ตุลาคม 2555 ถึงกันยายน 2556

หัวหน้าโครงการ และหน่วยงานต้นสังกัด

ผศ. ดร. อพัชชา จินดาประเสริฐ สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์อะไมเลส โดยคัดแยกจากถั่วเน่าจำนวน 9 ตัวอย่าง และนำมาทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งเบื้องต้นบนอาหาร starch agar โดยวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโซนไฮรอปโคโลนีที่เกิดจากการทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีน และคำนวณหาค่า hydrolysis capacity (HC) จากนั้นนำเชื้อที่คัดเลือกได้มาทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสในอาหารเหลว nutrient broth โดยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) และวัดปริมาณโปรตีน และทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวเจ้า จากการศึกษาพบว่าสามารถแยกเชื้อแบคทีเรียได้ 179 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มี 103 ไอโซเลทที่ให้ผลการเกิดโซนไฮรอปโคโลนี คัดเลือกไอโซเลทที่มีค่า HC สูงสุด คือ ไอโซเลท 1-16, 5-4, 5-6, 5-7, 5-20, 6-6, 7-1, 7-3, 7-13, 7-14 และ 9-11 ตามลำดับ นำมาทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสในอาหารเหลวและทดสอบความสามารถในการย่อยแป้งต่างๆ พบว่าทุกไอโซเลทสร้างเอนไซม์อะไมเลส และย่อยแป้งได้ทุกชนิด และไอโซเลท 5-20, 6-6 และ 7-1 พบมีค่ากิจกรรมของย่อยแป้งมันสำปะหลัง แป้งข้าวโพด และแป้งข้าวเจ้าได้สูงสุด นำมาระบุสายพันธุ์ของเชื้อด้วยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16s rRNA พบว่า ไอโซเลท 5-20, 6-6 และ 7-1 คือ *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* และ *Bacillus cereus* ตามลำดับ

คำสำคัญ : แบคทีเรียบาซิลลัส, ถั่วเน่า อะไมเลส แป้ง

Research Title: Screening of Amylase Producing Bacteria from Traditionally Fermented Soybean (Thua-nao) as Potential Starter Culture in Starch Degradation

Researcher: Assist. Prof. Dr. Aphacha Jindaprasert

Faculty: Agro-Industry

Department: -

ABSTRACT

The aim of this research was to isolate of amylase producing bacteria from 9 traditionally fermented soybean (Thua-nao) samples. All of bacteria isolates were examined for amylase production on starch agar staining with Gram's iodine solution, calculated of hydrolysis capacity (HC) value, determined of reducing sugar by dinitrosalicylic (DNS) method and protein concentration by Bradford test kit in nutrient broth, and test ability for degradation of tapioca, corn and rice starches. One hundred and three of 179 isolates showed clear zone with Gram's iodine. The high HC value isolates, 1-16, 5-4, 5-6, 5-7, 5-20, 6-6, 7-1, 7-3, 7-13, 7-14 and 9-11 were selected to determine amylase production in nutrient broth. The result showed that three isolates, 5-20, 6-6 and 7-1 could degrade tapioca, corn and rice starches at high level of enzyme specific activities. In addition, isolates, 5-20, 6-6 and 7-1 were identified as *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* and *Bacillus cereus*, respectively, using 16s rRNA analysis.

Keywords : *Bacillus* species. Fermented Soybean (Thua-nao), Amylase, Starch