

เสาวลักษณ์ คำนสกุล 2552: การศึกษาเทคนิคโมเลกุลสำหรับการระบุสายพันธุ์ของยีสต์ จากอาหารหมัก และเครื่องดื่มน้ำแอลกอฮอล์ของไทย ปรินญาปรัชญาคุณภูมิบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์ วิเชียร ติลาวัชรมาศ, Ph.D. 144 หน้า

ยีสต์ทั้งหมดจำนวน 25 ไอโซเลต แยกจากลูกแป้ง ข้าวหมาก กระบวนการหมักสาโท และน้ำตาลเมา ถูกนำมาระบุชนิดยีสต์โดยการทดสอบความสามารถในการใช้สารประกอบคาร์บอนด้วยชุดทดสอบ API ID 32 C และการวิเคราะห์ลำดับเบสบริเวณ D1/D2 domain ของ 26S rDNA พบว่ายีสต์จำนวน 14 ไอโซเลต ถูกระบุว่าเป็น *Saccharomyces cerevisiae* ยีสต์จำนวน 5 ไอโซเลต ซึ่งไม่สามารถระบุโดยชุดทดสอบนี้ ถูกระบุโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสพบว่าเป็นสปีชีส์ *Saccharomycopsis fibuligera* ที่เปอร์เซ็นต์ความเหมือน 98-99% สำหรับอีก 6 ไอโซเลตที่เหลือถูกระบุว่าเป็น *Candida tropicalis* (2), *Issatchenkia orientalis* (1) *Pichia caribbica/Candida fermentati* (2) และ *Pichia farinosa* (1) ซึ่งผลการเปรียบเทียบลำดับเบสกับฐานข้อมูล GenBank พบว่าลำดับเบสของไอโซเลตยีสต์ส่วนใหญ่ที่เปรียบเทียบ แสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกับลำดับเบสในฐานข้อมูลอยู่ในช่วง 98-99% จากนั้นลำดับเบสบริเวณ D1/D2 domain ให้ขึ้นดีเอ็นเอขนาดประมาณ 600 คู่เบส จะถูกนำมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม ClustalX และศึกษาความสัมพันธ์ของยีสต์แต่ละไอโซเลต โดยการวิเคราะห์ phylogenetic โดยมีค่า bootstrab สนับสนุนผลที่ได้จากการวิเคราะห์ ค่านี้ได้จากการคำนวณโดยวิธี neighbor joining พบว่า *Sc. cerevisiae* ทุกไอโซเลตถูกจัดกลุ่มให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่นเดียวกับกลุ่มของ *Sm. fibuligera*

นอกจากนี้ยังพบว่า *Sc. cerevisiae* ถูกพบเป็นสปีชีส์หลักในข้าวหมาก และกระบวนการหมักสาโท และน้ำตาลเมา ขณะที่ *Sm. fibuligera* ถูกพบเป็นสปีชีส์หลักในลูกแป้ง ยีสต์ *Sc. cerevisiae* 26 ไอโซเลต และ *Sm. fibuligera* 11 ไอโซเลต ซึ่งในจำนวนนี้รวมถึงสายพันธุ์ที่ถูกนำมาใช้เป็นสายพันธุ์อ้างอิง จะถูกนำมาศึกษาความแปรผันทางพันธุกรรมภายในสปีชีส์ โดยวิธีการวิเคราะห์ DHPLC ของ D1/D2 domain พบว่า *Sc. cerevisiae* และ *Sm. fibuligera* แสดง profile จำนวน 3 และ 4 รูปแบบ ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ microsatellite และ mtDNA-RFLP พบว่าทั้ง 2 วิธีแสดงรูปแบบของแถบดีเอ็นเอที่ต่างกัน ของ *Sc. cerevisiae* จำนวน 26 ไอโซเลตถึง 19 รูปแบบ เครื่องหมาย ISSR ถูกนำมาใช้ในการแยกความแตกต่างของ *Sm. fibuligera* โดยใช้ไพรเมอร์ UBC จำนวน 8 ชนิด ที่ให้แถบดีเอ็นเอจำนวน 80 แถบ มีขนาดประมาณ 300 ถึง 2000 คู่เบส ซึ่งสามารถแยก *Sm. fibuligera* ได้เป็น 7 กลุ่มอย่างชัดเจน จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าประสบความสำเร็จและ เป็นอีกหลักฐานที่ใช้ในการสนับสนุนถึงความหลากหลายของยีสต์ทั้งระดับสปีชีส์ และต่ำกว่าสปีชีส์ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่างๆ ในประเทศไทย ในงานวิจัยนี้ยังได้วิเคราะห์ผลการหมักเอธิลแอลกอฮอล์ของ *Sc. cerevisiae* และ ความสามารถในการย่อยแป้งของ *Sm. fibuligera* อีกด้วย