

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตกรดแกมมาพอลิกลูตามิกโดย <i>Bacillus subtilis</i> สายพันธุ์ถั่วเน่า	
ชื่อผู้เขียน	นางสาวพิชามณัฐ น้อยสุวรรณ	
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา	
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ผศ. มรกต สุกโชติรัตน์	ประธานกรรมการ
	ดร. อูราภรณ์ สอาดสุด	กรรมการ
	ผศ. อภิญา พลิกอมล	กรรมการ

#### บทคัดย่อ

ได้แยกแบคทีเรียจำนวน 40 ไอโซเลทจากถั่วเน่าที่ผลิตในเขตจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดเชียงราย พบว่ามี 26 ไอโซเลทที่เป็น *Bacillus* spp. นำมาทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแกมมาพอลิกลูตามิก ( $\gamma$ -polyglutamic acid; PGA) ใน PGA producing medium ที่ประกอบด้วย กลูโคส 2% แอมโมเนียมซัลเฟต 1% ที่ pH 7.5 อุณหภูมิ 45 °C อัตราการให้อากาศ 200 rpm บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมงและวัดปริมาณ PGA ด้วย spectrophotometer ที่ 520 nm พบว่า ไอโซเลท SS11 ซึ่งแยกได้จากถั่วเน่าที่ผลิตที่ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ ให้ปริมาณ PGA สูงที่สุดเท่ากับ 9.63 mg/ml และเมื่อตรวจสอบพื้นฐานและคุณสมบัติทางชีวเคมีพบว่าเป็น *Bacillus subtilis*

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต PGA ของ *B. subtilis* SS11 คือเลี้ยงใน PGA producing medium ที่ประกอบด้วย กลูโคส 2% แอมโมเนียมซัลเฟต 3% ที่ pH 8 อุณหภูมิ 45 °C บ่มบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ปริมาณ PGA สูงสุดเท่ากับ 10.44 mg/ml ส่วน *B. subtilis* (natto) ผลิต PGA ได้เพียง 8.09 mg/ml ในสภาวะเดียวกัน

นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียที่แยกได้จากถั่วเน่า 2 ไอโซเลท ที่มีผลในการย่อยสลาย PGA ได้แก่ ไอโซเลท SS2 และ MC18 และเมื่อตรวจสอบพื้นฐานและคุณสมบัติทางชีวเคมี พบว่าเป็น *Lactobacillus* sp. และ *Micrococcus* sp. ตามลำดับ แบคทีเรียทั้งสองชนิดนี้สร้างเอนไซม์ PGA hydrolase แบบ endo-type specificity ใน  $\gamma$ -polyglutamic acid hydrolase medium

<b>Thesis Title:</b>	Production of $\gamma$ -Polyglutamic Acid by <i>Bacillus subtilis</i> Thua - Nao Strain	
<b>Author</b>	Miss Phichamon Noisuwan	
<b>M.S.</b>	Biology	
<b>Examining Committee</b>	Asst. Prof. Morakot Sukchotiratana	Chairman
	Dr. Uraporn Sardud	Member
	Asst. Prof. Abhinya Plikomol	Member

### ABSTRACT

Forty isolates of bacteria were isolated from thua-nao obtained from Chiang Mai and Chiang Rai provinces. Twenty-six isolates were *Bacillus* spp. and were able to produce  $\gamma$ -polyglutamic acid (PGA) in PGA producing medium containing 2% glucose and 1% ammonium sulfate at pH 7.5, 45 °C with shaking at 200 rpm for 48 hours. The amount of PGA was detected with spectrophotometer at 520 nm. It was found that isolate SS11 obtained from Sansai district in Chiang Mai produced highest PGA. Morphological and biochemical tests indicated that it was *Bacillus subtilis*

The optimum conditions for PGA production by *B. subtilis* SS11 were it to grow in PGA producing medium containing 2% glucose and 3% ammonium sulfate at pH 8, 45 °C with shaking at 200 rpm for 48 hours. The maximum amount of 10.44 mg/ml PGA was obtained, whereas *B. subtilis* (*natto*) produced only 8.09 mg/ml of PGA under similar condition.

Two other isolates of bacteria were obtained from thua-nao which seemed to degrade PGA i.e. isolates SS2 and MC18. Morphological and biochemical tests indicated that they were *Lactobacillus* sp. and *Micrococcus* sp. respectively. Both of them produced PGA hydrolase of endo-type specificity in  $\gamma$ -polyglutamic acid hydrolase medium.