## การพัฒนาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวหอมมะลิและความเสถียรทางพันธุกรรมของแบคทีเรียกรด น้ำส้มระหว่างกระบวนการหมัก อไรวรรณ ทิพยศักดิ์

นักวิจัยระดับหลังปริญญาเอกสาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.ดร.กัญจนา ธีรกุล

## บทคัดย่อ

แบคทีเรียกรดน้ำส้มสายพันธุ์ที่มีความสามารถปรับตัวต่อเอทานอลความเข้มข้นสูงและอุณหภูมิสูงได้ ถูกปรับปรุงจากสายพันธุ์ทนร้อน Acetobacter pasteurianus SKU1108 เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิต น้ำส้มสายชูหมัก สายพันธุ์ปรับตัวดังกล่าวได้รับจากการเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่องในอาหารเหลวที่มีเอทานอล ความเข้มข้น 6 และ 7% ซึ่งถูกระบุว่าเป็นสายพันธุ์ 7E-13 สายพันธุ์นี้สามารถเจริญและผลิตกรดอะซิติกที่ อุณหภูมิ 37°⊂ ได้ดีกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ซึ่งมีประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่ อุณหภูมิสูง ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในระบบหล่อเย็น สายพันธุ์ปรับตัวนี้สามารถเจริญได้ดีกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ึบนอาหารแข็งที่อุณหภูมิ 41°C แต่เจริญได้น้อยกว่าสายพันธุ์ TH-3 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ปรับตัวต่ออุณหภูมิสูง เมื่อเลี้ยงสายพันธุ์ 7E-13 ในน้ำเหล้าข้าวหอมมะลิที่มีเอทานอลเข้มข้น 6% ที่อุณหภูมิ 37°C จะพบการผลิต กรดอะซิติกที่สูงกว่า ในขณะที่ไม่พบการเจริญของสายพันธุ์ดั้งเดิมในอาหารดังกล่าว จากการวิเคราะห์การ เจริญชี้ให้เห็นว่า กลีเซอรอลเป็นสารที่มีความจำเป็น ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการทำให้แบคทีเรียกรดน้ำส้มทนต่อ สภาวะเครียดต่างๆในกระบวนการหมัก การหมักแบบเลี้ยงร่วมระหว่างสายพันธุ์ปรับตัวต่อเอทานอลกับ จะให้ผลผลิตกรดอะซิติกมากกว่าการหมักโดยใช้เชื้อในกลุ่ม แบคทีเรียในกลุ่ม Gluconacetobacter Acetobacter เพียงชนิดเดียว นอกจากนี้ จากการวิเคราะห์รูปแบบของพลาสมิดและลำดับนิวคลีโอไทด์ของ ซึ่งถอดรหัสเป็นหน่วยย่อยที่สามของเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส พบว่า ไม่เกิดการ ยืน adhS เปลี่ยนแปลงในสายพันธุ์ปรับตัวนี้เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ปรับตัวดังกล่าว ค่อนข้างมีความเสถียรทางพันธุกรรม

**คำสำคัญ:** น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวหอมมะลิ การหมักแบบเลี้ยงร่วม แบคทีเรียกรดน้ำส้ม การปรับตัวต่อ เอทานอล ความเสถียรทางพันธุกรรม

## Development of Jasmine Rice Vinegar Fermentation and Genetic Stability in Acetic Acid Bacteria during Fermentation Process Uraiwan Tippayasak

Post.Doctoral Researcher in Microbiology, Faculty of Science, Kasetsart University Thesis Advisor: Assoc.Prof.Dr.Gunjana Theeragool

## **ABSTRACT**

We succeeded in obtaining a strain adapted to higher ethanol concentration and higher temperature from a thermotolerant strain, Acetobacter pasteurianus SKU1108, for vinegar fermentation. The adapted strain was obtained from the sequential cultivation in a medium containing 6% and 7% ethanol, and was designated as 7E-13. This strain exhibited higher growth and acetic acid production than the parental strain at 37°C. It was also shown to be useful for vinegar fermentation under high temperature with low cooling cost. The adapted strain could grow well, even better than the wild type, on agar plates at 41°C, but less than the temperature-adapted strain (TH-3). The 7E-13 strain showed higher acetic acid productivity in Jasmine rice wine containing 6% ethanol at 37°C, whereas SKU1108 strain could not grow in that medium. Determination of growth characteristics implied that glycerol was a necessary substance, which may associate with the resistance against various stressors during fermentation. Co-culture fermentation between the ethanol-adapted strain and Gluconacetobacter species exhibit the superior productivity to that of fermentation only with Acetobacter species. Furthermore, plasmid profile and the nucleotide of adhS gene encoding the smallest subunit of alcohol dehydrogenase enzyme of the adapted strain were also analyzed. The results showed that there is no alteration from the parental strain, which implied the genetic stability in this strain.

**Keywords:** Jasmine rice vinegar, co-culture fermentation, acetic acid bacteria, ethanol adaptation, genetic stability