LIBRARY AND INFORMATION CENTER
MAHIDOL UNIVERSITY

29 JUL 2002

A MATHEMATICAL MODEL STUDY IN GROWTH KINETICS OF SCREENED LACTOBACILLI SP. FOR PROBIOTICS USE.

EAKCHAI NAVAPUNYAKUL

ดุษฎีนิพนธ์การ
จาก
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(APPLIED MATHEMATICS)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2002

ISBN 974-04-1791-4

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

TH
E11m
2002
C.2

Copyright by Mahidol University

4236733 SCAM/M : MAJOR : APPLIED MATHEMATICS
; M.Sc. (APPLIED MATHEMATICS)
KEY WORDS : GROWTH KINETIC MODEL, OPTIMIZATION, PROBIOTICS, LACTIC ACID BACTERIA, *LACTOBACILLUS SALIVARIUS*

EAKCHAI NAVAPUNYAKUL : A MATHEMATICAL MODEL STUDY IN GROWTH KINETICS OF SCREENED LACTOBACILLI SP. FOR PROBIOTICS USE. THESIS ADVISORS : I MING TANG, Ph.D., SOMCHAI CHAUVATCHARIN, Ph.D. 115 P. ISBN 974-04-1791-4

The lactic acid bacteria strains are widely used as probiotic to improve a better health in human and animal. The *Lactobacillus salivarius* strain 22A was screened and identified as a good probiotic for chicken. In the cultivation of *L. salivarius*, it was observed that cell growth and death were influenced by lactic acid concentration and its pH. For optimization of cultivation process, the mathematical model was constructed to describe the cell growth and death kinetics with the aim of finding the optimal condition for high cell density cultivation. For the model construction, cultivation experiments were conducted in order to investigate the effects of lactate and pH on cell growth and death. The experiment was designed for studying each effect separately. It was found that the optimal pH to achieve the highest value of the maximum specific growth rate was pH of 6. At other than optimal pH conditions (less than 4.5 of higher than 7), the cell growth was inhibited. This was attributed to the use of an improper pH, which would affect the key enzyme activities. During the death phase, the cell death was high as lactate concentration increased. At high pH condition (more than 7), the cell death rate was more pronounced. The death at high pH condition may result from the cell autolysis. The suitable pH to minimize the cell death by pH effect was found to be lower than 5.86. In the study for model development, for the growth inhibition by lactate concentration, the Monod equation with the non-competitive product inhibition developed by Loung *et al.* was found to be the most suitable model for describing the cell growth. For the effect of pH on cell growth, it was demonstrated that the relationship between maximum specific growth rate (μ_m) and cultured pH can be represented by a quadratic equation. During the death phase of *L. salivarius* strain 22A, a modified Michaelis-Menten equation was developed to explain the death due to lactic acid and pH. The Michaelis-Menten equation was modified to include the effects of the pH and the lactic acid. A nonlinear least square fitting of the modified Michaelis-Menten equation to the experimental data showed that the modified Michaelis-Menten equation was a more realistic model than was the Michaelis-Menten equation used to describe the death of *L. salivarius* strain 22A due to lactic acid concentration and controlled pH. The model simulation of cell mass at various pH pointed to the optimal pH needed to yield the maximum cell density was 4.5. According to this study, it was demonstrated that the mathematical model can be used as a tool to determine optimal culture conditions required to support high cell growth while avoiding the inhibitory effect.

Copyright by Mahidol University

4236733 SCAM/M : สาขาวิชา : คณิตศาสตร์ประยุกต์ ; วท.ม. (คณิตศาสตร์ประยุกต์)

เอกชัย นวปัญญากุล : การศึกษาพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์สำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์สำหรับสายพันธุ์ Lactobacilli sp. ที่คัดเลือกสำหรับเป็นสารเสริมชีวภาพในไก่ (A MATHEMETICAL MODEL STUDY IN GROWTH KINETICS OF SCREENED LACTOBACILLI SP. FOR PROBIOTICS USE) คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: I Ming Tang, Ph.D., สมชาย เชื้อวัชรินทร์, Ph.D. 115 หน้า. ISBN 974-04-1791-4

สายพันธุ์ lactic acid แบคทีเรีย ได้ถูกใช้เป็นสารเสริมชีวภาพในมนุษย์และสัตว์ เพื่อทำให้มีสุขภาพดี แบคทีเรีย *Lactobacillus salivarius* สายพันธุ์ 22A ถูกคัดเลือกว่าเป็นสารเสริมชีวภาพที่ดีในไก่ ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย *L. salivarius* พบว่าการเติบโตและการตายของเซลล์ มีอิทธิพลมาจากกรดแลคติกและค่า pH ในการศึกษานี้ ตัวแบบเชิงคณิตศาสตร์ได้ถูกสร้างเพื่ออธิบายกลไกการเติบโตและการตายของเซลล์ เพื่อหาสภาวะที่ดีที่สุดเพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์มาก จากการทดลองพบว่า pH ที่เหมาะสม ซึ่งให้ค่า μ_m สูงสุด คือ pH 6 และในช่วงการตาย พบว่าการตายของเซลล์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแลคเตด ในขณะที่ pH ต่ำกว่า 4.5 หรือสูงกว่า 7 พบว่าการตายของเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลจาก cell autolysis ค่า pH ที่เหมาะสมเพื่อลดการตาย คือ pH ต่ำกว่า 5.86 สำหรับการพัฒนาตัวแบบเพื่ออธิบายการเจริญเติบโตของเซลล์พบว่า สมการ Monod แบบ Non-competitive inhibition ซึ่งพัฒนาโดย Loung เป็นตัวแบบที่เหมาะสมในการอธิบายการเจริญเติบโตของเซลล์ ภายใต้การยังยั้งของกรดแลคติก ผลกระทบของ pH ต่อการเติบโตของเซลล์ พบว่า ความสัมพันธ์ของ μ_m และ pH เป็นสมการกำลังสอง ในช่วงการตาย สมการ Modified Michaelis–Menten ได้ถูกพัฒนาขึ้น เพื่ออธิบายการตายของแบคทีเรีย *L. salivarius* สายพันธุ์ 22A จากกรดแลคติกและ pH โดยวิธี Non-linear least square fitting แสดงว่าสมการ Modified Michaelis–Menten เป็นแบบจำลองที่สมจริงกว่าสมการ Michaelis–Menten สำหรับการพยากรณ์มวลเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงที่ค่า pH ต่างๆ โดยแสดงเป็น contour plot พบว่าค่า pH ที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ความหนาแน่นของเซลล์มากที่สุด คือ pH 4.5 จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ตัวแบบทางคณิตศาสตร์สามารถประยุกต์ใช้ เพื่อวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสม ในการเลี้ยงเชื้อให้ได้ปริมาณเซลล์ที่สูงโดยหลีกเลี่ยงปัจจัยที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์

Copyright by Mahidol University