การวัดปริมาณกรดแลคติคที่เกิดจากการเฟอร์เมนเตชั่นของน้ำตาลบางชนิด โดยเชื้อสเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์ และสเตรพโตคอคคัส แซนเควียส

นายจินตกร ภูวัฒนสุชาติ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชาจุลชีววิทยา
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2524

DETERMINATION OF LACTIC ACID PRODUCED BY FERMENTATION OF SOME SUGARS BY *STREPTOCOCCUS MUTANS* AND *STREPTOCOCCUS SANGUIS*

Mr. Jintakorn Kuvatanasuchati

A Thesis Submitted in Partial Fulfilment of the Requirement

For the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Microbiology

Graduate School

Chulalongkorn University

1981

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวัดปริมาณกรดแลคติคที่เกิดจากการเพ่อรเมนเตชั่นของน้ำตาลบางชนิด โดยเชื้อสเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์ และสเตรพโตคอคคัส แซนเครียส
โดย	นายจินตกร ภูวัฒนสุชาติ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....รักษาการในตำแหน่งคณบดีบัณฑิตวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุประดิษฐ์ บุนนาค)

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุมนา วรรธนะภูติ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัตน์ เสรีนิราช)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรพิน ฤดีชื่น)

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวัดปริมาณกรดแลคติคที่เกิดจากการเฟอรเมนเตชั่นของน้ำตาลบางชนิด โดยเชื้อสเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์ และสเตรพโตคอคคัส แซนเควียส
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สันติ ถุงสุวรรณ
ชื่อ	นายจินตกร คูวัฒนสุชาติ
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2524

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

การเจริญของเชื้อสเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์ และสเตรพโตคอคคัส แซนเควียส ในน้ำตาลกลูโคส ซูโครส แลคโตส แมนนิทอล และไซลิทอล ที่ความเข้มข้น และระดับความเป็นกรดด่างต่าง ๆ กัน ทั้งในบรรยากาศที่มี และไม่มีออกซิเจน ให้ผลปรากฏว่า ในภาวะไม่มีออกซิเจน สเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์ในน้ำตาลไซลิทอล จะให้กรดแลคติคน้อยกว่าในน้ำตาลชนิดอื่น ส่วนสเตรพโตคอคคัส แซนเควียส เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำตาลที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1% ลงมา ไซลิทอลก็เป็นน้ำตาลที่ให้กรดแลคติคน้อยเช่นกัน สำหรับภาวะที่มีออกซิเจนนั้น สเตรพโตคอคคัส มิวแทนส์จะให้กรดแลคติคน้อย เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำตาลซูโครสที่มีความเข้มข้น 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.1% และ 1% ส่วนสเตรพโตคอคคัส แซนเควียส เมื่อเพาะในน้ำตาลไซลิทอล จะให้กรดแลคติคน้อย ไม่ว่าในความเข้มข้นขนาดใด อนึ่ง เมื่อน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อมีความเป็นกรดเท่ากับ 5 จะได้กรดแลคติคน้อยกว่าเมื่อใช้น้ำตาลเหล่านี้ที่ความเป็นกรดด่างระดับอื่น ๆ

Thesis Title DETERMINATION OF LACTIC ACID PRODUCED BY FERMENTATION OF SOME SUGARS BY STREPTOCOCCUS MUTANS AND STREPTOCOCCUS SANGUIS

Advisor Assistant Professor Dr. Santi Thoongsuwan

Name Mr. Jintakorn Kuvatanasuchati

Department Microbiology

Academic year 1981

ABSTRACT

The growth of Streptococcus mutans and Streptococcus sanguis in glucose, sucrose, lactose, mannitol and xylitol at various concentrations and pH both in aerobic and anaerobic conditions revealed that under anaerobic condition S. mutans produced less lactic acid from xylitol than from other sugar and S. sanguis produced less lactic acid from xylitol at the concentration less than 0.1%. Under aerobic condition S. mutans produced less lactic acid at 0.01%, 0.03%, 0.05%, 0.1% and 1% concentrations of sucrose and S. sanguis produced less lactic acid in every concentration of xylitol. When the pH of most sugar media was adjusted to be 5 the production of lactic acid was less in compare to those produced by such organisms in other pH levels of various sugar media.

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACKNOWLEDGEMENT

I wish to express my appreciation to Dr. Santi Thoongsuwan Assistant Professor of the Department of Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Science, Chulalongkorn University, for his interest, guidance and encouragement throughout the study.

I am indebted and grateful to Dr. Ratana Serinirach Assistant Professor of the Department of Microbiology, Faculty of Dentistry, Chulalongkorn University, for his guidance, advice, instruction, providing the references and counsel which have helped towards the success of this study.

I am also grateful to The Graduate School, Chulalongkorn University for providing some financial support, 3,100 bath, to this project.

TABLE OF CONTENTS

	Page
THAI ABSTRACT	iv
ENGLISH ABSTRACT	v
ACKNOWLEDGEMENT	vi
TABLE OF CONTENTS	vii
LIST OF TABLE	ix
ABBREVIATION	xvi
CHAPTER	
I INTRODUCTION	1
1. Theories of caries formation	1
2. Bacterial invasion and breakdown of the dental hard tissues	1
3. Microorganisms involved in the caries process.	2
4. Microorganisms under studies	6
5. Cariogenicity of S. mutans in experimental animals	13
6. S. mutans and dental caries in humans	15
7. Epidemiological relationship between S. mutans and caries development	16
8. The purpose of study	19

CHAPTER		Page
II	MATERIAL AND METHODS.....	20
III	RESULTS.....	24
	1. Studies on lactic acid were produced by S. mutans and S. sanguis after cultivation in various concentrations of sugars.....	24
	2. Study on the effects of pH on lactic acid production of S. mutans and S. sanguis.....	28
IV	DISCUSSION AND CONCLUSION.....	32
V	REFERENCE.....	36
VI	APPENDIX.....	58
	1. Culture media.....	59
	2. Reagent.....	61
	3. Analysis of the data from the experiments.....	61
	4. Statistic analysis of Table 9.....	89
	5. Statistic analysis of Table 37.....	
VII	VITA.....	

LIST OF TABLE

Page

Table 1 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in various concentrations of sugars. (Anaerobic condition)..... 24

Table 2 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in various concentrations of sugars. (Aerobic condition)..... 25

Table 3 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in various concentrations of sugars. (Anaerobic condition)..... 26

Table 4 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in various concentrations of sugars. (Aerobic condition)..... 27

Table 5 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in various pH of sugars. (Anaerobic condition)..... 28

Table 6 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in various pH of sugars. (Aerobic condition)..... 29

Table 7 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in various pH of sugars. (Anaerobic condition)..... 30

Table 8 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in various pH of sugars. (Aerobic condition)..... 31

Page

Table 9 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.01% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 61

Table 10 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.02% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 61

Table 11 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.03% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 62

Table 12 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.05% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 62

Table 13 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.1% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 63

Table 14 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 1% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 63

Table 15 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 3% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 64

Table 16 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.01% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 65

Page

Table 17 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.02% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 65

Table 18 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.03% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 66

Table 19 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.05% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 66

Table 20 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.1% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 67

Table 21 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 1% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 67

Table 22 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 3% conc. of sugars. (Anaerobic condition)..... 68

Table 23 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.01% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 69

Table 24 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.02% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 69

Page

Table 25 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.03% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 70

Table 26 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.05% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 70

Table 27 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 0.1% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 71

Table 28 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 1% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 71

Table 29 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in 3% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 72

Table 30 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.01% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 73

Table 31 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.02% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 73

Table 32 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.03% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 74

Page

Table 33 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.05% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 74

Table 34 Lactic acid production fo S. sanguis after incubation for 24 hrs in 0.1% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 75

Table 35 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 1% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 75

Table 36 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in 3% conc. of sugars. (Aerobic condition)..... 76

Table 37 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 1% mannitol. (Anaerobic condition)..... 77

Table 38 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 3% glucose. (Anaerobic condition)..... 77

Table 39 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 1% lactose. (Anaerobic condition)..... 78

Table 40 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 1% sucrose. (Anaerobic condition)..... 78

Page

Table 41 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 0.01% xylitol. (Anaerobic condition)..... 79

Table 42 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 1% mannitol. (Anaerobic condition)..... 80

Table 43 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 0.1% glucose. (Anaerobic condition)..... 80

Table 44 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 3% lactose. (Anaerobic condition)..... 81

Table 45 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 3% sucrose. (Anaerobic condition)..... 81

Table 46 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 0.01% xylitol. (Anaerobic condition)..... 82

Table 47 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 0.05% mannitol. (Aerobic condition)..... 83

Table 48 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 3% glucose. (Aerobic condition)..... 83

Page

Table 49 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 3% lactose. (Aerobic condition)..... 84

Table 50 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 3% sucrose. (Aerobic condition)..... 84

Table 51 Lactic acid production of S. mutans after incubation for 24 hrs in each pH of 0.01% xylitol. (Aerobic condition)..... 85

Table 52 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 1% mannitol. (Aerobic condition)..... 86

Table 53 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 0.1% glucose. (Aerobic condition)..... 86

Table 54 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 3% lactose. (Aerobic condition)..... 87

Table 55 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 3% sucrose. (Aerobic condition)..... 87

Table 56 Lactic acid production of S. sanguis after incubation for 24 hrs in each pH of 0.01% xylitol. (Aerobic condition)..... 88

ABBREVIATION

conc.	concentration
^{o}C	degree celceus
EC	Enzyme classification
gm.	gram
hrs.	hours
HCl	Hydrochloric acid
IPS	intracellular iodine staining polysaccharide
MS	Mitis salivarius
ml.	millilitre
nm	nanometer
NaOH	Sodium hydroxide
p-hydroxy diphenyl	parahydroxy diphenyl
PEP	phosphoenolpyruvate
q.s.	quantity sufficience
α	alpha
β	beta
γ	gramma