

อาทิตย์ ธานี. 2548. การผลิตกรดแลคติกจากกลูโคส ไซโลส และสารสกัดจากชานอ้อยโดย *Lactococcus lactis* IO-1.

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัย
ขอนแก่น. [ISBN 947-284-307-4]

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: รศ.ดร. พัฒนา เหล่าไพบุลย์, ผศ.ดร. ลักขณา เหล่าไพบุลย์, ผศ. สุกานดา วิจิตพันธ์ุ,
ผศ. สามารถ มูลอำมาตย์

บทคัดย่อ

170973

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตกรดแลคติกโดย *Lactococcus lactis* IO-1 ในสูตรอาหาร
พื้นฐานที่มีน้ำตาลกลูโคส ไซโลส หรือน้ำตาลผสมระหว่างกลูโคสและไซโลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้การเลี้ยง
แบบกะ ศึกษาวิธีการใช้น้ำตาลไซโลส เมแทบอลิซึมพลักร์ของการใช้น้ำตาลไซโลสในการผลิตกรดแลคติก
สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยด้วยค่างและกรด และการผลิตกรดแลคติกจากสารละลายที่ได้จาก
การไฮโดรไลซ์ชานอ้อยโดยการแปรผันชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน ผลการทดลองพบว่า *Lc. lactis*
IO-1 ใช้น้ำตาลกลูโคสผ่านกระบวนการหมักแบบไฮโมแลคติกทั้งในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่ำ
และสูง ส่วนการหมักน้ำตาลไซโลสพบว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสต่ำ (5 และ 10 กรัมต่อลิตร) *Lc. lactis*
IO-1 ผลิตกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่กรดแลคติกถูกสร้างเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ความเข้มข้นของ
น้ำตาลไซโลสสูง (30 และ 50 กรัมต่อลิตร) ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเป็น
ปัจจัยหลักที่ควบคุมเมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลส ในการผลิตกรดแลคติกในน้ำตาลผสมระหว่างกลูโคสและ
ไซโลสพบว่า *Lc. lactis* IO-1 มีการเจริญแบบ diauxic และในช่วงที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสในน้ำตาลผสมพบว่า *Lc.*
lactis IO-1 สร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักในทุกสภาวะของการทดลอง ซึ่งผลการทดลองที่ได้คล้ายกับเมื่อใช้
น้ำตาลไซโลสในน้ำตาลผสมที่ความเข้มข้น 15, 25, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ในขณะที่กรดอะซิติกถูกสร้างเป็น
ผลิตภัณฑ์หลักในช่วงที่มีการใช้น้ำตาลไซโลสในน้ำตาลผสมที่ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 กรัมต่อลิตร สำหรับ
การศึกษาวิถีการใช้น้ำตาลไซโลสภายใต้สภาวะการหมักแบบกะพบว่า น้ำตาลไซโลสถูกใช้ผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส
และวิถีเพนโตสฟอสเฟตพร้อมกันทุกสภาวะการทดลอง การวิเคราะห์เมแทบอลิซึมพลักร์ของ *Lc. lactis* IO-1 ใน
การผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลไซโลสพบว่า วิถีฟอสโฟคีโตเลสและวิถีเพนโตสฟอสเฟตเป็นวิถีหลักของคาร์บอน
เมแทบอลิซึม ซึ่งผลการทดลองอธิบายด้วยวิธีการใช้น้ำตาลไซโลสและแอกติวิตีของเอนไซม์ที่แตกต่างกันในไซ
เวดเมแทบอลิซึม สำหรับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยด้วยสารละลายค่างเพื่อสกัดเอา
ลิกนินออก จากนั้นนำไปไฮโดรไลซ์ด้วยกรดเพื่อให้ได้สารละลายที่มีน้ำตาลสูง ผลการทดลองพบว่าการใช้
แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร สามารถสกัดลิกนินได้ในปริมาณสูงสุดเท่ากับ 322.19
มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100 องศา
เซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าให้ประสิทธิภาพของการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยสูงสุด (15.95) และที่สภาวะ
ดังกล่าวได้น้ำตาลไซโลส 13.09 กรัมต่อลิตร น้ำตาลกลูโคส 2.66 กรัมต่อลิตร น้ำตาลอะราบินอส 1.22 กรัมต่อลิตร
และกรดอะซิติก 0.06 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตกรดแลคติกจากสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยพบว่า
ผลได้ของกรดแลคติกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.26 กรัมของกรดแลคติกต่อกรัมของน้ำตาลที่ถูกใช้ เมื่อเติมยีสต์สกัด
ที่ความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร

Arthit Thani. 2004. **Lactic Acid Production from Glucose, Xylose and Sugar Cane Bagasse Hydrolysate by *Lactococcus lactis* IO-1**. Master of Science Thesis in Biotechnology, Graduate School, Khon Kaen University. [ISBN 947-284-307-4]

Thesis Advisors : Assoc.Prof. Dr. Pattana Laopaiboon,
Asst.Prof. Dr. Lakkana Laopaiboon,
Asst.Prof. Sukanda Vichitphan,
Asst.Prof. Samart Moonamart

ABSTRACT

170973

The aims of this experiment were to study lactic acid production in the basal medium containing glucose, xylose and the mixtures of the sugars at various concentrations under batch cultures of *Lactococcus lactis* IO-1 and to study metabolic pathway and metabolic flux analysis of xylose utilization on lactic acid production. Optimal conditions of sugar cane bagasse hydrolysis using alkaline and acid treatments and lactic acid production from the treated hydrolysate of sugar cane bagasse supplemented with nitrogen sources at various concentrations were also studied. The results showed that *Lc. lactis* IO-1 demonstrated homolactic fermentation in both low and high glucose concentrations under glucose batch cultures. In xylose batch cultures, acetic acid was mainly produced at low xylose concentrations (5 and 10 g l⁻¹) whereas lactic acid was mainly produced at high xylose concentrations (30 and 50 g l⁻¹). These observations suggested that the principal factor controlling xylose metabolism was xylose concentration. In the mixtures of glucose and xylose, a classical diauxic was observed under batch cultures of *Lc. lactis* IO-1. In glucose fermentation period, lactic acid was produced as a main product at all conditions tested. Similar results were also observed in xylose fermentation period at 15, 25, 30 and 50 g l⁻¹ whereas acetic acid was produced as a main product in xylose fermentation period at 2.5, 5 and 10 g l⁻¹. The control of xylose utilization was investigated in batch culture. The results suggested that both phosphoketolase and pentosephosphate pathways may be operating concurrently at all xylose concentrations tested in batch culture. Metabolic flux analysis of *Lc. lactis* IO-1 grown on xylose revealed that the phosphoketolase and pentosephosphate pathways were the central routes of carbon metabolism. These results were discussed in terms of pathways and activities of different-pyruvate converting enzymes. In addition the optimal conditions of sugar cane bagasse hydrolysis were investigated by using alkaline hydrolysis to extract lignin and acid hydrolysis to obtain high sugar solution. The results showed that the highest lignin concentration extracted from the bagasse was 322.19 mg l⁻¹ by using 10 % ammonium hydroxide. For acid hydrolysis, optimal conditions to obtain highest efficiency (15.95) of sugar cane bagasse hydrolysis were 0.5 % (v/v) hydrochloric acid at 100 °C for 5 hours, which yielded a solution with 13.09 g xylose l⁻¹, 2.66 g glucose l⁻¹, 1.22 g arabinose l⁻¹ and 0.06 g acetic acid l⁻¹. For lactic acid production from the hydrolysate by *Lc. lactis* IO-1, a maximum yield of lactic acid of 0.26 g lactic acid g⁻¹ sugars utilized was obtained when the hydrolysate was supplemented with 7 g l⁻¹ of yeast extract.