181954

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการผลิตกรดแลคติกโดย *Lactococcus lactis* IO-1 ในสูตรอาหารพื้นฐานที่มีน้ำตาลกลูโคส ไซโลส หรือน้ำตาลผสมระหว่างกลูโคสและไซโลสที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้การเลี้ยงแบบกะ ศึกษาวิถีการใช้น้ำตาลไซโลส เมแทบอลิกซ์ฟลักซ์ของการใช้น้ำตาลไซโลสในการผลิตกรดแลคติก สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยด้วยด่างและกรด และการผลิตกรดแลคติกจากสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยโดยการแปรผันชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจน ผลการทดลองพบว่า *Lc. lactis* IO-1 ใช้น้ำตาลกลูโคสผ่านกระบวนการหมักแบบโฮโมแลคติกทั้งในสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่ำและสูง ส่วนการหมักน้ำตาลไซโลสพบว่า ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสต่ำ (5 และ 10 กรัมต่อลิตร) *Lc. lactis* IO-1 ผลิตกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่กรดแลคติกถูกสร้างเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่ความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสสูง (30 และ 50 กรัมต่อลิตร) ผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเป็นปัจจัยหลักที่ควบคุมเมแทบอลิซึมของน้ำตาลไซโลส ในการผลิตกรดแลคติกในน้ำตาลผสมระหว่างกลูโคสและไซโลสพบว่า *Lc. lactis* IO-1 มีการเจริญแบบ diauxic และในช่วงที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสในน้ำตาลผสมพบว่า *Lc. lactis* IO-1 สร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักในทุกสภาวะของการทดลอง ซึ่งผลการทดลองที่ได้คล้ายกับเมื่อใช้น้ำตาลไซโลสในน้ำตาลผสมที่ความเข้มข้น 15, 25, 30 และ 50 กรัมต่อลิตร ในขณะที่กรดอะซิติกถูกสร้างเป็นผลิตภัณฑ์หลักในช่วงที่มีการใช้น้ำตาลไซโลสในน้ำตาลผสมที่ความเข้มข้น 2.5, 5 และ 10 กรัมต่อลิตร สำหรับการศึกษาวิถีการใช้น้ำตาลไซโลสภายใต้สภาวะการหมักแบบกะพบว่า น้ำตาลไซโลสถูกใช้ผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลสและวิถีเพนโตสฟอสเฟตพร้อมกันทุกสภาวะการทดลอง การวิเคราะห์เมแทบอลิกซ์ฟลักซ์ของ *Lc. lactis* IO-1 ในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลไซโลสพบว่า วิถีฟอสโฟคีโตเลสและวิถีเพนโตสฟอสเฟตเป็นวิถีหลักของคาร์บอนเมแทบอลิซึม ซึ่งผลการทดลองอธิบายด้วยวิถีการใช้น้ำตาลไซโลสและแอคติวิตีของเอนไซม์ที่แตกต่างกันในไพรูเวตเมแทบอลิซึม สำหรับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยด้วยสารละลายด่างเพื่อสกัดเอาลิกนินออก จากนั้นนำไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรดเพื่อให้ได้สารละลายที่มีน้ำตาลสูง ผลการทดลองพบว่าการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร สามารถสกัดลิกนินได้ในปริมาณสูงสุดเท่ากับ 322.19 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง พบว่าให้ประสิทธิภาพของการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยสูงสุด (15.95) และที่สภาวะดังกล่าวได้น้ำตาลไซโลส 13.09 กรัมต่อลิตร น้ำตาลกลูโคส 2.66 กรัมต่อลิตร น้ำตาลอะราบิโนส 1.22 กรัมต่อลิตร และกรดอะซิติก 0.06 กรัมต่อลิตร ส่วนการผลิตกรดแลคติกจากสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยพบว่าผลได้ของกรดแลคติกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 0.26 กรัมของกรดแลคติกต่อกรัมของน้ำตาลที่ถูกใช้ เมื่อเติมยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น 7 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าการลดความเป็นพิษของสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ชานอ้อยนอกจากจะทำให้ *Lc. lactis* IO-1 เจริญได้ดีขึ้นแล้ว ยังช่วยเพิ่มความสามารถในการหมักกรดแลคติกด้วย

ABSTRACT

181954

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. At these conditions, the hydrolysate consisted of 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, the maximum yield of lactic acid (0.26 g lactic acid g^{-1} sugars utilized) was obtained when the hydrolysate was supplemented with 7 g l^{-1} of yeast extract. In addition, detoxification of sugar cane bagasse hydrolysate could improve not only growth of *Lc. lactis* IO-1 but also lactic acid fermentation.