

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การผลิตโคอะซิติลจากน้ำมะพร้าวโดยเชื้อ *Lactobacillus*
pentosus

นักศึกษา

นางสาวอสนี จิระวิบูลย์เวช

รหัสประจำตัว

44065212

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

เทคโนโลยีชีวภาพ

พ.ศ.

2548

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์

รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

โคอะซิติลและอะซิโทอินเป็นสารให้กลิ่นรสที่เป็นองค์ประกอบหลักในผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิด *Lactobacillus pentosus* SR 4-2 และ *Lactobacillus pentosus* AP 17-1 สามารถผลิตโคอะซิติลและอะซิโทอินโดยใช้ชีเชิร์ตเป็นแหล่งอาหารได้ เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวMMRSและอาหารน้ำมะพร้าว พบว่าทั้งสองสายพันธุ์มีการผลิตชีวมวลในอาหารน้ำมะพร้าวสูงกว่าในอาหารMMRS ทั้งในสถานะนิ่งและสถานะเขย่า การเลี้ยงเชื้อในสถานะเขย่าและมีการเติมชีเชิร์ตความเข้มข้น 43 มิลลิโมลาร์ ในช่วงเวลาที่ 14 ชั่วโมงทั้งสองสายพันธุ์มีการผลิตโคอะซิติลสูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าวที่มีการเติมชีเชิร์ตตั้งแต่เริ่มต้น ปริมาณน้ำมะพร้าวเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์เหมาะสมต่อการผลิตโคอะซิติลของเชื้อสายพันธุ์ SR 4-2 ในขณะที่สายพันธุ์ AP 17-1 คืออาหารน้ำมะพร้าว 75 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ไตรโซเดียมชีเชิร์ตเป็นแหล่งชีเชิร์ต พีเอชเริ่มต้น 5.5 และ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทั้งสองสายพันธุ์สามารถผลิตโคอะซิติล อะซิโทอินและมีค่าน้ำหนักเซลล์แห้งเฉลี่ยสูงสุด ปัจจัยที่คัดเลือกจากอาหารน้ำมะพร้าวทั้งหมด 6 ปัจจัย คือ ผงสกัดจากเนื้อ ผงสกัดจากยีสต์ เปปไทน์ โซเดียมชีเชิร์ต ทวิน 80 และโซเดียมอะซิเตต การหาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตโคอะซิติลในระดับฟลasksของเชื้อ *Lb. pentosus* SR 4-2 และ สายพันธุ์ AP 17-1 โดยใช้แผนการทดลองแบบเศษส่วนเชิงแฟคทอเรียลแบบสองระดับและวิธีพื้นผิวผลตอบสถานะที่เหมาะสมที่สุด(กรัมต่อลิตร) ซึ่งส่งผลต่อการผลิตโคอะซิติลได้สูงสุดของสายพันธุ์ SR 4-2 คือ ผงสกัดจากเนื้อ 7.5, ผงสกัดจากยีสต์ 7.15, เปปไทน์ 7.5, ทวิน 80 0.75, โซเดียมอะซิเตต 2.5 และไตรโซเดียมชีเชิร์ต 47.27 มิลลิโมลาร์ หรือ 13.90 กรัมต่อลิตร ในขณะที่สถานะที่เหมาะสม(กรัมต่อลิตร) ของเชื้อสายพันธุ์ AP 17-1 คือ ผงสกัดจากเนื้อ 7.92, ผงสกัดจากยีสต์ 6.52, เปปไทน์ 7.5, ทวิน 80 0.75, โซเดียมอะซิเตต 2.5 และไตรโซเดียมชีเชิร์ต 52.20 มิลลิโมลาร์ หรือ 15.35 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะนี้สายพันธุ์ SR 4-2 สามารถผลิตโคอะซิติล อะซิโทอินและน้ำหนักเซลล์แห้งได้ 0.228 มิลลิโมลาร์ 4.88 มิลลิโมลาร์ และ 1.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และสายพันธุ์ AP 17-1

สามารถผลิตโคอะซิติล 0.170 มิลลิโมลาร์ อะซิโทอิน 5.15 มิลลิโมลาร์ น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.02 กรัมต่อลิตร ซึ่งใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากแบบจำลอง เมื่อเพาะเลี้ยง *Lb. pentosus* SR 4-2 และสายพันธุ์ AP 17-1 ในถังหมักขนาด 10 ลิตรในสภาวะที่เหมาะสมของแต่ละสายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ SR 4-2 น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 1.96 กรัมต่อลิตร ผลิตโคอะซิติลได้สูงสุด 0.204 มิลลิโมลาร์ ผลิตอะซิโทอินสูงสุดเท่ากับ 5.05 มิลลิโมลาร์ การเจริญของสายพันธุ์ AP 17-1 มีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด 1.75 กรัมต่อลิตร ผลิตโคอะซิติลได้สูงสุด 0.140 มิลลิโมลาร์ และผลิตอะซิโทอินสูงสุดเท่ากับ 4.55 มิลลิโมลาร์

Thesis Title	Production of Diacetyl from Coconut Water by <i>Lactobacillus pentosus</i>
Student	Miss Asanee Jiraviboonwech
Student ID.	44065212
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2005
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nuanphan Naranong

ABSTRACT

Diacetyl and acetoin, major flavor compounds found in various fermented dairy products, can be produced by *Lactobacillus pentosus* strain SR 4-2 and AP 17-1 using citrate as a substrate. Biomass production of both strains in coconut water medium under static and shaking conditions were higher than those in MMRS. Moreover, the addition of 43 mM sodium citrate at 14 h of cultivation provided higher the diacetyl production compared to medium supplement with the same level of citrate at 0 h. The 50% (v/v) of coconut water was optimal concentration for diacetyl production for strain SR 4-2 while 75% (v/v) for AP 17-1. Using tri-sodium citrate as a citrate source with an initial pH of 5.5 at 30 °C, both strains produced the highest yield of diacetyl, acetoin and cell dry weight. The selected six variables were beef extract, yeast extract, peptone, sodium citrate, tween 80 and sodium acetate in coconut water medium were studied to optimize the diacetyl production in shaking condition using the fractional factorial design and response surface methodology (RSM). The optimized coconut water medium (g/l) consisted of 7.5 beef extract, 7.15 yeast extract, 7.5 peptone, 13.9 sodium citrate, 2.5 sodium acetate and 0.75 tween 80. The highest diacetyl production by *Lb. pentosus* SR 4-2 was 0.228 mM with 4.88 mM acetoin and 1.99 g/l biomass. While, the optimal condition of coconut water medium(g/l) for *Lb. pentosus* AP 17-1 was composed of 7.92 beef extract, 6.52 yeast extract, 7.5 peptone, 15.35 sodium citrate, 2.5 sodium acetate and 0.75 ween 80 with the production of 0.170 mM diacetyl, 5.15 mM acetoin and 2.02 g/l biomass. These experimental results were in agreement with the model predictions. Using 10 liter fermentor, *Lb. pentosus* strain SR 4-2 gave the highest yields of biomass, diacetyl and acetoin at 1.96 g/l, 0.204 mM and 5.05 mM, respectively whereas the highest yields at 1.75 g/l(biomass),0.140 mM diacetyl and 4.55 mM acetoin were obtained for strain AP 17-1.