

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนจากจมูกถั่วเหลืองหมัก ออกแบบระบบถังหมักชีวภาพที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโน ตลอดจนศึกษาการสกัดและการผลิตไอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ที่ผลิตจากระบบถังหมักชีวภาพที่ออกแบบได้

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนจากจมูกถั่วเหลืองหมักพบว่า ลักษณะของจมูกถั่วเหลืองก่อนหมัก ปริมาณเชื้อ *Bacillus coagulans* PR03 ปริมาณอากาศในการหมัก และอุณหภูมิในการหมัก มีผลต่อปริมาณไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนในจมูกถั่วเหลืองหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยจมูกถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการบดมีความเหมาะสมใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนได้มากกว่าการใช้จมูกถั่วเหลืองที่ผ่านการบด สำหรับการศึกษาปริมาณเชื้อ *Bacillus coagulans* PR03 ที่เหมาะสม พบว่า ปริมาณเชื้อที่ร้อยละ 15 จะให้ปริมาณไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนมากที่สุดเท่ากับ 1,498.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง สำหรับปริมาณอากาศที่เหมาะสมในการหมัก พบว่า ปริมาณอากาศที่ 6 ลิตรต่อนาที โดยให้ปริมาณไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนสูงสุดที่ 1,172.83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนรวมมากที่สุดเท่ากับ 1,521.39 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

การออกแบบระบบถังหมักชีวภาพเพื่อผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโน ประกอบด้วย บั๊มอากาศ เครื่องวัดปริมาณอากาศ แผ่นกรองอากาศขนาด 0.2 ไมโครเมตร ท่ออากาศ เครื่องหมุนถัง ความเร็วรอบต่ำ และถังหมักชีวภาพแบบแนวนอนผลิตจากเหล็กปลอดสนิม ปริมาตรถัง 46 ลิตร ปริมาตรผลิต 15 ลิตร สามารถผลิตโดยใช้จมูกถั่วเหลืองตั้งต้นประมาณ 7 กิโลกรัม สำหรับการศึกษาประสิทธิภาพการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโนของเชื้อ *Bacillus coagulans* PR03 ในระบบถังหมักชีวภาพ พบว่า มีอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อจุลินทรีย์ (μ) ในระหว่างการหมักเท่ากับ 0.095 ต่อชั่วโมง มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสระหว่างการหมักสูงสุดเท่ากับ 2.7 มิลลิยูนิตต่อกรัม และมีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคโน ($q_{\text{total aglycones}}$) เท่ากับ 12.07 mg \cdot hr⁻¹ ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตไอโซฟลาโวนด้วยระบบถังหมักชีวภาพ เท่ากับ 96 ชั่วโมง

การศึกษากการสกัดและการผลิตไอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ที่ผลิตจากระบบถังหมักชีวภาพพบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลในกระบวนการสกัดที่เหมาะสม คือ ร้อยละ 80 ซึ่งได้ปริมาณ

ก

ไอโซฟลาโวนเท่ากับ 394.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารสกัดเอทานอล และเรซินที่เหมาะสมในกระบวนการผลิตไอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ คือ Amberlite XAD-4 โดยมีร้อยละของผลผลิตและร้อยละความบริสุทธิ์เท่ากับ 53.66 และ 31.00 ตามลำดับ

ABSTRACT

The objectives of this research were to investigate the factors which had effect on isoflavone aglycone produced from fermented soy germ, to design the optimal bioreactor for isoflavone aglycone production including to determine the extraction and purification of isoflavone aglycone produced from the bioreactor.

Regarding the factors which had effect on isoflavone aglycone production from fermented soy germ, the results showed that the appearance of soy germ before fermentation, the amount of *Bacillus coagulans* PR03, the air quantity in fermentation and temperature during fermentation affected on the quantities of isoflavone aglycone significantly ($p \leq 0.05$). The non crushed soy germ was suitable in using as raw material in fermentation due to bacteria could produce more isoflavone aglycone than crushed soy germ. For the optimization of *Bacillus coagulans* PR03, it was found that 15% of *Bacillus coagulans* PR03 produced the most amount of isoflavone aglycone (1,498.52 mg/100 g dry weight). Regarding the optimization of aeration quantity in fermentation, the results showed that using the air quantity of 6 liter per minutes could produce the highest level of isoflavone aglycone (1,172.83 mg/100g dry weight). While the temperature during fermentation of 35°C could produce the highest level of total isoflavone aglycone (1,521.39 mg/ 100g dry weight).

The designed bioreactor consisted of the following parts: an air pump, air flow meter, a 0.2 µm air filter, air pipe, a slow speed rotor including a 46 liters horizontal bioreactor tank made of stainless steel with 15 liters working volume which had capacity of 7 kgs soy germ. The efficiency of isoflavone aglycone by *Bacillus coagulans* PR03 in such bioreactor was determined. It was founded that the growth rate of bacteria during fermentation was 0.095 per hour. The highest β-glucosidase activity was 2.7mU/g. The changing rate of isoflavone aglycone ($q_{\text{totalaglycones}}$) was 12.07 mg·ml·hr⁻¹·CFU⁻¹/100g dry weight, whereas the optimal time for isoflavone production was 96 hours.

The extraction and purification of isoflavone produced by using such bioreactor were also determined. It was found that the optimal ethanol extraction concentration was 80% with the extraction yield of 394.30 mg isoflavone / ml ethanol. The optimal resin for isoflavone purification was Amberlite XAD-4 with the yield and purification percentages of 53.66% and 31.00%, respectively.