บทคัดย่อ

174290

แซนแทนกัมเป็นสารประกอบโพลีเมอร์ที่ผลิตได้อย่างมีประสิทธิภาพจากเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *Xanthomonas campestris* TISTR 1100 (ATCC 13591) โดยกระบวนการหมัก แซนแทนกัม สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหลายประเภทเนื่องจาก เป็นสารที่ทำให้เกิดความเสถียรของอิมัลชั่น สารให้ความคงตัว และมีคุณสมบัติในการเป็น pseudoplasticity มีการนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมยา อุตสาหกรรมเกษตร สิ่งทอ และอุตสาหกรรมปิโตรเคมี จุดประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแซนแทนกัมในแง่อาหารเลี้ยงเชื้อ อัตราการให้อากาศ อุณหภูมิและอัตราการกวนที่มีผลต่อการผลิตแซนแทนกัมให้มีปริมาณสูงสุดโดยใช้การวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตและการผลิตแซนแทนกัม โดยงานวิจัยได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 ส่วน คือ การทดลองที่ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิต การทดลองที่ 2 ผลของการให้อากาศ การทดลองที่ 3 ผลของการกวนและอุณหภูมิ และ การทดลองที่ 4 ผลของการให้อากาศและการกวนต่อการผลิตแซนแทนกัมในถังหมัก

การทดลองที่ 1 ในการหมักแบบกะโดยแบคทีเรีย *X. campestris* TISTR 1100 ที่ 28 องศาเซลเซียส pH 7.0 เป็นระยะเวลา 80 ชั่วโมง งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาผลของอัตราเร็วในการเขย่าที่ 200, 250 และ 300 รอบต่อนาที ต่อการผลิตแซนแทนกัมในอาหาร 4 ชนิด คือ อาหารสูตรสังเคราะห์, น้ำมะพร้าว, น้ำอ้อย และน้ำมะพร้าวผสมน้ำอ้อย จากผลการศึกษาพบว่าอัตราการเขย่าและชนิดของอาหารมีผลต่อการผลิตแซนแทนกัม ค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักในแต่ละสูตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ อัตราการสร้างแซนแทนกัมจำเพาะ และอัตราการใช้สับเสรตจำเพาะ ได้ทำการสรุปผลไว้แล้วในผลการทดลอง โดยสภาวะที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตแซนแทนกัม คือ อาหารหมักประเภทมะพร้าวผสมกับอ้อย ในอัตราส่วน 1:1 ที่อัตราการการเขย่าที่ 300 รอบต่อนาที ผลของการวิเค ราะห์สูตรอาหารโดยเปรียบเทียบในอาหารสูตรสังเคราะห์, น้ำมะพร้าว, น้ำอ้อย และน้ำมะพร้าวผสมน้ำอ้อย พบว่าให้ค่าความหนืดของน้ำหมักสูงสุดเป็น 112, 622, 478 และ 914 เซนติพอยต์ตามลำดับ และค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักเป็นดังนี้ การสร้างแซนแทนกัมสูงสุด 35.66, 104.90, 64.28 และ117.90 กรัมต่อลิตร มวลชีวภาพสูงสุด 1.05, 1.01, 1.06 และ0.96 กรัมต่อลิตร ผลของการเขย่าต่อการผลิตแซนแทนกัมพบว่าเมื่อเพิ่มการเขย่าขึ้น 20% และ 50% อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ในอาหารแต่ละประเภทมีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นมาก โดยอาหารหมักสูตรน้ำมะพร้าวมีความเหมาะสมสำหรับเป็นสารอาหารในการหมักแซนแทนกัมจะมีอัตราการผลิตแซนแทนกัมสูงสุด เป็นจำนวน 1.5 และ 2.3 เท่า เปรียบเทียบกับอาหารสังเคราะห์, น้ำมะพร้าว, น้ำอ้อย และน้ำมะพร้าวกับน้ำอ้อย

การทดลองที่ 2 เชื้อแบคทีเรีย *X. campestris* TISTR 1100 ได้นำมาทดสอบการหมักแบบกะ โดยติดตั้งชุดทดลองบนเครื่องเขย่าที่ควบคุมความเร็ว 250 รอบต่อนาที ในระยะเวลาการหมัก 35 ชั่วโมง ที่ 28 องศาเซลเซียส และทำการเติมอากาศ 0, 5, 10 และ 15 ppm ตามลำดับ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทนกัม โดยทำการเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อสองชนิดระหว่างอาหารสังเคราะห์และน้ำอ้อย ผลการทดลองพบว่าอัตราการเติมอากาศที่เหมาะสมที่สุดคือ 15 ppm และในน้ำอ้อยสามารถผลิตแซนแทนกัมได้ดีกว่าในอาหารสังเคราะห์ โดยสามารถผลิตแซนแทนกัมได้สูงสุด 117.3 กรัมต่อลิตร มีค่ามวลชีวภาพสูงสุด 6.8 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำค่าจลนพลศาสตร์การหมักมาพิจารณาร่วมจะพบว่า การผลิตแซนแทนกัมเกิดขึ้นเป็นผลสืบเนื่องมาจากการเจริญเติบโต ในอาหารสังเคราะห์เมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 2 เท่า อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เป็น 3 เท่า และเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 3 เท่า อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เป็น 5 เท่า ในส่วนของอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์พบว่าเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศในอาหารสังเคราะห์เป็น 2 เท่า อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า และเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 3 เท่า อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเป็น 3.5 เท่า ในน้ำอ้อยเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 2 เท่า อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า และเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 3 เท่า อัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่า และในส่วนของอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า พบว่าอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์เพิ่มขึ้นเป็น 4 เท่า และในส่วนของอัตราการสร้างผลิตภัณฑ์ พบว่าเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศในน้ำอ้อยเป็น 2 เท่า อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 3 เท่า และเมื่อเพิ่มช่วงอัตราการเติมอากาศเป็น 3 เท่า อัตราการสร้างผลิตภัณฑ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 3.5 เท่า

การทดลองที่ 3 งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของอัตราการกวนและอุณหภูมิต่อการผลิตแซนแทนกัมจากน้ำมะพร้าว การทดลองทำในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 3.7 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 2.7 ลิตร อัตราการกวนที่ใช้อยู่ในช่วง 300-700 รอบต่อนาที และระดับอุณหภูมิที่ใช้อยู่ในช่วงระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการกวนที่ 300 , 500 และ 700 รอบต่อนาที ให้ค่าความหนืดของน้ำหมักสูงสุดเป็น 77.5, 252.5 และ 877.5 เซนติพอยต์ ตามลำดับ และค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการคำนวณ คือมวลชีวภาพสูงสุด 1.04, 2.40 และ 2.91 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.133, 0.173 และ 0.178 ต่อชั่วโมง อัตราการสร้างแซนแทนกัมจำเพาะสูง 0.380, 0.318 และ 0.883 กรัมต่อกรัมชั่วโมง การใช้สับเสรตสูงสุด 22.29, 26.15 และ 23.29 กรัมต่อลิตร และอัตราการใช้สับเสรตจำเพาะสูงสุด 11.800, 8.889 และ 6.407 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ ผลจากการศึกษาที่อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที พบว่าที่อุณหภูมิ 30, 33 และ 35 องศาเซลเซียส ให้ค่าความหนืดของน้ำหมักสูงสุดเป็น 430, 877.5 และ 420 เซนติพอยต์ ตามลำดับ และค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักที่ได้จากการคำนวณคือ อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.224, 0.178 และ 0.154 ต่อชั่วโมง อัตราการสร้างแซนแทนกัมจำเพาะสูง 0.447, 0.883 และ 0.883 กรัมต่อ

174290

กรัมชั่วโมง และอัตราการใช้สับเสรตจำเพาะสูงสุด 5.842, 6.407 และ 10.913 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ

การทดลองที่ 4 งานวิจัยครั้งนี้ได้ทำการศึกษาผลของออกซิเจนที่ละลายในอาหารหมักต่อการผลิตแซนแทนกัมจากอาหารสังเคราะห์และน้ำมะพร้าว การทดลองทำในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 3.7 ลิตร ปริมาตรใช้งาน 2.7 ลิตร ออกซิเจนที่ละลายในอาหารหมักใช้ช่วง 10-30 เปอร์เซ็นต์ และควบคุมอุณหภูมิที่ 33 องศาเซลเซียส แล้วจึงจะนำผลที่ดีที่สุด นำไปทดลองกับน้ำมะพร้าว ผลการทดลองพบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารหมักจากการใช้อาหารสังเคราะห์ ที่ 10, 15 และ 30 เปอร์เซ็นต์ให้ค่าความหนืดของน้ำหมักสูงสุดเป็น 582.5, 690 และ 950 เซนติพอยต์ตามลำดับ และค่าจลนพลศาสตร์ที่ได้จากการคำนวณ คือมวลชีวภาพสูงสุด 1.95, 2.14 และ 2.60 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.236, 0.266 และ 0.247 ต่อชั่วโมง การสร้างแซนแทนกัมสูงสุด 9.25, 13.75 และ 15.65 กรัมต่อลิตร อัตราการสร้างแซนแทนกัมจำเพาะสูง 0.214, 0.352 และ 0.318 กรัมต่อกรัมชั่วโมง การใช้สับเสรตสูงสุด 19.37, 19.68 และ 21.99 กรัมต่อลิตร และอัตราการใช้สับเสรตจำเพาะสูงสุด 1.740, 0.800 และ 1.141 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง สรุปได้ว่าที่การควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารสังเคราะห์ที่ 15 เปอร์เซ็นต์ มีความเหมาะสมมากที่สุด และใช้กับน้ำมะพร้าว พบว่าค่าความหนืดของน้ำหมักสูงสุดเป็น 630 เซนติพอยต์ และค่าจลนพลศาสตร์ของกระบวนการหมักที่ได้จากการคำนวณคือ มวลชีวภาพสูงสุด 2.60 กรัมต่อลิตร อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด 0.321 ต่อชั่วโมง การสร้างแซนแทนกัมสูงสุด 16.25 กรัมต่อลิตร อัตราการสร้างแซนแทนกัมจำเพาะสูง 0.478 กรัมต่อกรัมชั่วโมง การใช้สับเสรตสูงสุด 23.28 กรัมต่อลิตร และอัตราการใช้สับเสรตจำเพาะสูงสุด 5.826 กรัมต่อกรัมต่อชั่วโมง ตามลำดับ

การใช้น้ำมะพร้าวซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรที่มีมูลค่าต่ำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการหมักแทนอาหารสังเคราะห์ในถังหมักแบบมีใบกวนโดยใช้เชื้อ *X. campestris* TISTR 1100 โดยกำหนดให้ปัจจัยในการผลิตที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส pH 7.0 ที่อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที และ หรือสภาวะที่มีผลให้เกิดการละลายของออกซิเจนที่ 15 % เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแซนแทนกัม

Abstract

174290

Xanthan gum is an important biopolymer that is produced efficiently by a gram negative bacterium, *Xanthomonas campestris* TISTR 1100 (ATCC 13951) , through the fermentation process. It has been used in a wide variety of foods for a number of reasons, including emulsion stabilization, temperature stability and its pseudoplastic rheological properties and in other industrial applications such as pharmaceuticals, agriculture, textile and petroleum production. The aim of this research is to investigate the factors that dictate the xanthan gum productivity in terms of culture medium, aeration rates, temperature and agitation in order to optimization of xanthan production using the kinetic analysis of growth and xanthan production. The reserach can be separated in 4 parts including experiment I, the appropriate culture medium; experiment II, aeration rate effect; experiment III, agitation rate and temperature effects; and experiment IIII, aeration and agitation effects on xanthan production in bioreactor.

Experiment I, a batch fermentation strategy using *X. campespestris* TISTR 1100 was experimented with the operational conditions at 28 °C, pH 7.0 over the course of 80 hours fermentation time. This research is to study the effect of the shaking speeds at 200, 250 and 300 rpm in 4 culture mediums, including synthetic medium, coconut juice medium, sugar cane medium and combined coconut juice-sugar cane medium. The results indicate that the shaking speed and culture mediums have a significant influence on xanthan production. Growth kinetic parameters of each substrate as specific growth rate, specific rate of xanthan production and specific rate of substrate utilization were summarized. Optimum conditions for xanthan yield were found in a combined coconut-sugar cane medium with the shaking speed at 300 rpm. The comparison analysis of culture mediums revealed that the maximum broth viscosity values were 112, 622, 478 and 914 centipoises in synthetic, coconut juice, sugar cane and combined coconut juice-sugar cane medium, respectively. The growth kinetic parameters showed that the maximum xanthan concentrations of the previous medium were 35.66, 104.90, 64.28 and 117.90 g/L; the maximum biomass concentrations were 1.05, 1.01, 1.06 and 0.96 g/L. Results showed that the increased of the shaking speeds from 20% to 50% were not contributed to a significantly increased in the growth rate in all medium; however, the rates of xanthan production were enhanced. The coconut juice medium appears to be a suitable substrate for xanthan fermentation with the maximum rate of xanthan gum production equal to 1.5 and 2.3 times as increased shaking speeds when compared with that of synthetic, coconut juice, sugar cane and combined coconut juice-sugar cane medium.

Experiment II, *X. campespestris* TISTR 1100 was experimented with the operational conditions at 28 °C, pH 7.0 with the shaking speed 250 rpm over the course of 35 hours fermentation time in a batch fermentation. The aeration rate effects at 0, 5, 10, 15 ppm on xanthan production were evaluated in a batch fermentation. Both of synthetic and sugar cane medium were compared in order to determine the optimal condition for xanthan production. Results indicate that the 15 ppm aeration rate was suitable for both substrates, whereas the xanthan yield was higher in sugar cane medium than synthetic medium. The experiment showed that the maximum xanthan production was 117.3 g/L with 6.8 g/L maximum biomass concentration. When accounting for the growth fermentation kinetics, xanthan gum is considered as a growth associated product. Results showed that the growth rate in synthetic medium increased 3 and 5 times as the aeration rate was increased by 2 and 3 times. The increment in the growth was resulting in the greater rate of xanthan production. Data revealed that an increasing of aeration rate from 2 and 3 times was

influenced the rate of xanthan production by 3 and 3.5 times. In the sugar cane medium, the growth rate multiplied from 2 to 4 times as 2 and 3 times increasing in aeration rate. To the same amount of this aeration rate, the greater rates of xanthan production were obtained by 3 and 3.5 times.

Experiment III, the effects of agitation rate and temperature on xanthan gum production were investigated. A 3.7 litre fermenter with a 2.7 litre of working volume was used throughout this experiment. The ranging of agitation rates from 300 to 700 rpm and the ranging of temperatures from 30 to 35 ^{0}C were evaluated. Results showed that under the temperature of 33 ^{0}C when the agitation rates at 300, 500 and 700 rpm were tested, the maximum viscosity of the fermenter broth were 77.5, 252.5 and 877.5 centripoise. The fermentation kinetics showed the maximum of biomass concentration were 1.04, 2.40 and 2.19 g/L, the maxminum specific growth rate were 0.133, 0.173 and 0.178 h^{-1}, the maximum of xanthan concentration were 0.380, 0.318 and 0.883 g/g/h, the maximum of substrate utilization were 22.29, 26.15 and 23.29 g/L, the maximum of specific rate of substrate utilization were 11.800, 8.889 and 6.407 g/g/h, respectively. The optimum agitation rate at 700 rpm was chosen as a fixed parameter, while the temperature conditions at 30, 33 and 35 ^{0}C were reevaluated. Results revealed that the maximum viscosity of fermentation broth were 430, 887.5 and 420 centipoises. The fermentation kinetics indicated that the maximum specific growth rate were 0.224, 0.178 and 0.154 h^{-1}, the maximum specific rate of xanthan production were 0.447, 0.883 and 0.883g/g/h, the maximum specific of substrate utilization were 5.842, 6.407 and 10.913 g/g/h, respectively.

Experiment IIII, an effect of dissolved oxygen in the synthetic and coconut juice were investigated. The culture mediums were carried out in a 3.7 litre fermenter with a 2.7 litre of working volume. The ranging of dissolved oxygen from 10 to 30 % were tested by using synthetic medium at 33 ^{0}C. At 10, 15, and 30% of dissolved oxygen, the maximum viscosity of fermentation broth were 582.5, 690 and 950 centipoises. The fermentation kinetics showed that the maximum biomass concentrations were 1.95, 2.14 and 2.60 g/L, the maximum specific growth rate were 0.236, 0.266 and 0.247 h^{-1}, the maximum xanthan production were 9.25, 13.75 and 15.65 g/L , the maximum specific rate of xanthan production were 0.214, 0.352 and 0.318 g/g/h, the maximum substrate utilization were 19.37, 19.68 and 21.99 g/L and the maximum specific rate of substrate utilization were 1.740, 0.800 and 1.141 g/g/h, respectively. The results indicated that the 15% of dissolved oxygen was the most suitable for xanthan fermentation. The coconut water was then tested under the 15 % dissolved oxygen using the same condition as previously investigated. Results revealed that the maximum viscosity was 630 centipoise. The fermentation kinetics showed that the maximum biomass concentration was 2.60 g/L, the maximum specific growth rate was 0.321 h^{-1}, the maximum xanthan production was 16.25 g/L, the maximum specific rate of xanthan production was 0.478 g/g/h, the maximum substrate utilization was 23.28 g/L and the maximum specific rate of substrate utilization was 5.826g/g/h, respectively.

The uneconomical agricultural product, coconut juice, can be used as an excellent substrate source to replace the synthetic medium for fermentation in a stirred tank bioreactor by *X. campestris* TISTR 1100. The operational factors should be performed at 33 ^{0}C, pH 7 with the 700 rpm agitation rate (and/or aeration rate) resulting in 15 % dissolved oxygen. Under these controlled parameters, the optimization of the xanthan productivity is acheived.