

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเวย์โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401
นักศึกษา	นางสาวฤทัยรัตน์ สุทธิสุวรรณ
รหัสประจำตัว	47063904
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2550
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. สุขใจ ชูจันทร์

บทคัดย่อ

ในการศึกษาการผลิตกรดโพรพิโอนิกจากเวย์โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ *Lactococcus lastis* TISTR 1401 พบว่าปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดโพรพิโอนิก คือ หัวเชื้อ *Propionibacterium acidipropionici* ปริมาณร้อยละ 5 และหัวเชื้อ *Lactococcus lastis* ปริมาณร้อยละ 5 โดยการเติมหัวเชื้อทั้ง 2 ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกันเมื่อเริ่มทำการทดลอง เมื่อทำการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการควบคุมพีเอชที่ 6.5 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ไม่ต้องพ่นอากาศ ใช้อัตราการกวน 150 รอบต่อนาที ได้ปริมาณกรดโพรพิโอนิกมากที่สุด คือ 17.27 กรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาในการหมัก 168 ชั่วโมง มีผลผลิตกรดโพรพิโอนิก 0.443 กรัมต่อกรัม และมีอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิก 0.103 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 2.90×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 3.50×10^{10} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

Thesis Title	Studies on Propionic Acid Production from Whey by <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 in Combination with <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401
Student	Miss Rutairat Sutthisuwan
Student ID	47063904
Degree	Master of Science
Program	Biotechnology
Year	2007
Thesis Advisor	Associate Professor Sukjai Choojun

ABSTRACT

Propionic acid production from whey by *Propionibacterium acidipropionici* ATCC 4965 in combination with *Lactococcus lactis* TISTR 1401 was studied. It was found that the optimal initial inoculum size in propionic acid production was 5% *Propionibacterium acidipropionici* and 5% *Lactococcus lactis* by inoculating both cultures in a medium at the same time. Propionic acid production by batch fermentation conducted in 2 liters fermentor at 30°C, 150 rpm, and pH 6.5 produced maximum propionic acid (17.27 g/l in 168 hours). The propionic acid yield and its productivity were 0.443 (g/g) and 0.103 (g/l.h), respectively and the cell number increased from 2.90×10^7 to 3.50×10^{10} cfu/ml.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สามารถประสบความสำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จาก รศ.สุขใจ ชูจันทร์ ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษา จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ที่ได้เสียสละเวลาอันมีค่ามาให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ ตลอดจนแนวทางในการแก้ไขปัญหาที่เป็นประโยชน์ระหว่างการค้นคว้าวิจัย รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.พรรณี จิตาภิชิต ผศ.ดร.พนา โลหะทรัพย์ทวี และ ผศ.อารี ฤทธิบูรณ์ ที่กรุณาสละเวลาตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สมชาย ไกรรักษ์ ที่ได้สละเวลาอันมีค่ามาให้ความรู้ ในงานวิจัยนี้ ขอขอบพระคุณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่อนุเคราะห์เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในงานวิจัย

ขอขอบพระคุณ บริษัท Minor Cheese Limited ที่อนุเคราะห์เวย์ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่นำมาใช้ในงานวิจัย

ขอขอบคุณ บัณฑิตศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ เจ้าหน้าที่ธุรการทุกท่าน ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีรวมทั้งอำนวยความสะดวกต่างๆระหว่างทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความสนับสนุนและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา ขอขอบคุณแดงโมที่ช่วยเหลือ ให้คำปรึกษาทำให้งานวิจัยนี้เสร็จสมบูรณ์ด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ฤทัยรัตน์ สุทธิสุวรรณ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูป	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ความสำคัญของกรดโพรพิโอนิก.....	3
2.2 คุณสมบัติของกรดโพรพิโอนิก.....	4
2.3 อันตรายจากกรดโพรพิโอนิก.....	6
2.4 กระบวนการผลิตกรดโพรพิโอนิก.....	7
2.5 เวย์	9
2.6 การใช้ประโยชน์จากเวย์.....	12
2.7 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดโพรพิโอนิก	15
2.8 วิธีการเกิดกรดโพรพิโอนิก.....	17
2.9 การผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ <i>propionibacterium</i> สายพันธุ์ต่างๆ	21
2.10 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดโพรพิโอนิก	22
2.11 การผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสม.....	25
2.12 เชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactococcus lactis</i>	26
2.13 การทำให้เป็นกลาง	27
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	29

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
3.1 อุปกรณ์.....	29
3.2 วัตถุดิบ	30
3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย	30
3.4 สูตรอาหารที่ใช้ในการวิจัย	31
3.5 ศึกษาการเจริญและการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR ในฟลาस्कขนาด 2 ลิตร	31
3.6 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมหัวเชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ผสมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401 ในฟลาस्कขนาด 2 ลิตร	32
3.7 ศึกษาอัตราการกวนในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR ในถังหมักขนาด 2 ลิตร	33
3.8 การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ.....	34
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์.....	35
4.1 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401 ในฟลาस्कขนาด 2 ลิตร	35
4.2 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมหัวเชื้อ <i>Propionibacterium</i> <i>acidipropionici</i> ATCC 4965 ผสมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401 ในฟลาस्कขนาด 2 ลิตร	45
4.3 ผลการศึกษาอัตราการกวนในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง <i>Propionibacterium acidipropionici</i> ATCC 4965 ร่วมกับเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i> TISTR 1401 ในถังหมักขนาด 2 ลิตร	52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	63
บรรณานุกรม	64

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	70
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี.....	70
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์	72
ภาคผนวก ค ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	78
ประวัติผู้เขียน	80

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แสดงคุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของกรดโพรพิโอนิก	5
2.2 องค์ประกอบโดยประมาณของสปีทเวย์และแอซิดเวย์	10
2.3 ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นในนม เคซีน และเวย์	12
2.4 องค์ประกอบและปริมาณโปรตีนในเวย์	12
2.5 แสดงการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยเชื้อ <i>Propionibacterium</i> สายพันธุ์ต่างๆ.....	21
4.1 แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโพรพิโอนิก จากการใช้เชื้อผสมในการศึกษาการเจริญและการผลิตกรดโพรพิโอนิก	45
4.2 แสดงค่าผลผลิตกรดโพรพิโอนิกและอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิก ในการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเติมหัวเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ร้อยละ5 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> ร้อยละ5	52
4.3 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก ผลผลิตและอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกในถังหมัก ขนาด 2 ลิตร เมื่อใช้เชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ร้อยละ5 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> ร้อยละ5	59
4.4 แสดงการวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดโพรพิโอนิกจากการศึกษา การผันแปรอัตราการกวนในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้หัวเชื้อผสมระหว่าง <i>P. acidipropionici</i> ร้อยละ5 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> ร้อยละ5 ในถังหมักขนาด 2 ลิตร	60
4.5 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิก และอัตราการผลิตกรดโพรพิโอนิกในการใช้เชื้อเดี่ยว ของเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ปริมาณร้อยละ ที่หมักในพลาสติก กับการผลิตโดยใช้เชื้อ ผสมที่หมักในถังหมัก.....	61

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 กรดโพรพิโอนิกและเกลือของกรดโพรพิโอนิก	3
2.2 สูตรโครงสร้างโมเลกุลของกรดโพรพิโอนิก.....	4
2.3 สูตรโครงสร้างแสดงน้ำตาลแลคโตสที่ถูกไฮโดรไลส์	11
2.4 ขั้นตอนการผลิต Whey permeate	13
2.5 ความเป็นไปได้ที่จะนำเวย์มาใช้ประโยชน์	16
2.6 เชื้อ <i>Propionibacterium acidipropionici</i>	16
2.7 วิธีการเกิดกรดโพรพิโอนิกจากการหมักกลูโคสโดยเชื้อ <i>Propionibacterium</i>	17
2.8 การสร้าง ซัคซิเนต และ โพรพิโอเนต โดยการตรึงคาร์บอนไดออกไซด์.....	19
2.9 กระบวนการเปลี่ยนแปลงกลีเซอรอลไปเป็นกรดโพรพิโอนิก	19
2.10 วิธีอะครีเลตของการสร้างโพรพิโอเนต	20
2.11 เชื้อ <i>Lactococcus lactis</i>	27
2.12 การย่อยสลายน้ำตาลของเชื้อ <i>Lactococcus lactis</i>	28
4.1 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส และกรดแลคติกที่ทำการหมัก โดยเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 5	35
4.2 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส และกรดแลคติกที่ทำการหมัก โดยเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10.....	37
4.3 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมัก โดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 5	38
4.4 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมัก โดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10.....	39
4.5 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลคติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อ ร้อยละ 5 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 5.....	40
4.6 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลคติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อ ร้อยละ 10 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10	41
4.7 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลคติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อ ร้อยละ 10 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 10	42

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.8 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อ ร้อยละ10 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5.....	43
4.9 แสดงการเจริญและปริมาณกรดแลกติกของเชื้อ <i>L. lactis</i> TISTR 1401 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5	46
4.10 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยการเติมเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ร่วมกับเชื้อ <i>L. lactis</i> ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ไปพร้อมกันเมื่อเริ่มทำการทดลอง(ชั่วโมงที่ 0)	47
4.11 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยการเติมเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณ หัวเชื้อร้อยละ5 ในชั่วโมงที่12	48
4.12 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยการเติมเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ในชั่วโมงที่24.....	49
4.13 แสดงค่าพีเอช จำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ที่ทำการหมักโดยการเติมเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ในชั่วโมงที่48.....	50
4.14 แสดงปริมาณกรดโพรพิโอนิกในการศึกษาระยะเวลาการเติมหัวเชื้อ <i>P. acidipropionici</i> ATCC 4965 ปริมาณร้อยละ5	51
4.15 แสดงจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้อัตราการกวน 0 รอบต่อนาที	53
4.16 แสดงจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้อัตราการกวน 50 รอบต่อนาที	54
4.17 แสดงจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลกติก และกรดโพรพิโอนิก ในการผลิตกรดโพรพิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที.....	55

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.18 แสดงจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลคติก และกรดโฟรฟิโอนิก ในการผลิตกรดโฟรฟิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้อัตราการกวน 150 รอบต่อนาที.....	56
4.19 แสดงจำนวนเซลล์ ปริมาณน้ำตาลแลคโตส กรดแลคติก และกรดโฟรฟิโอนิก ในการผลิตกรดโฟรฟิโอนิกโดยใช้เชื้อผสมในถังหมักขนาด 2 ลิตร ใช้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที.....	57