**Thesis Title** 

Exopolysaccharide Production by *Lactobacillus* confusus CMU 198 Using Coconut Water as Substituted Nitrogen and Carbon Sources

**Author** 

Miss Arthitaya Kawee-ai

**Degree** 

Master of Science (Biotechnology)

**Thesis Advisor** 

Dr. Ampin Kuntiya

## **ABSTRACT**

Exopolysaccarides (EPS) are produced by a wide range of microorganisms. They are broadly used as thickening and stabilizing agents in food industry to improve food qualities. In this research, the production of EPS by Lactobacillus confusus CMU 198 was investigated using ripened coconut water as a substitute for nitrogen and carbon sources in order to reduce production cost. The concentrations of three expensive components which included peptone, yeast extract, and beef extract as presented in the modified MRS medium were decreased by half from 10.0, 5.0 and 5.0 g/L to 5.0, 2.5 and 2.5 g/L, respectively. Coconut water was used to replace deionized water in fermentation medium preparation. The EPS concentration in this medium was increased two-fold and reached the final concentration of 12.05 g/L when the comparison was made to the same medium prepared with deionized water. The production cost was also mitigated by two folds. Therefore, this suitable medium containing coconut water was used to optimize the conditions for EPS production in a 5L stirred-tank bioreactor. The effect of pH (5.0-7.0), initial total sucrose concentrations (40–120 g/L), agitation rates (25–75 rpm) and temperatures (20–40°C) were investigated. Experimental results showed that the suitable conditions were pH 5.5, initial total sugar concentration of 100 g/L, agitation speed of 50 rpm and temperature of 20°C. Under this condition, the highest EPS level of 53.40 g/L was produced, which was approximately four-fold higher than that obtained from the

optimized flask experiments and could decrease production cost by four-folds. Therefore, ripened coconut water could be used as a partial substitute raw material for peptone, yeast extract and beef extract in the modified MRS medium. The kinetic parameters of EPS production under the optimized conditions were: specific growth rate of 0.07 h<sup>-1</sup>, cellular yield coefficient 0.04 g biomass/g substrate, conversion yield of substrate to product of 1.47 g EPS/g substrate, specific rate of product formation of 2.57 g EPS/L·h, specific rate of substrate utilization of 1.75 g biomass/L·h and productivity of 2.02 g EPS/L·h.



## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การผลิตเอกซ์โซโพลีแซกคาไรค์โดย Lactobacillus confusus CMU 198 โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นแหล่ง

ในโตรเจนและคาร์บอนทดแทน

นางสาวอาทิตยา กาวีอ้าย

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คร. อำพิน กันธิยะ

ผู้เขียน

ปริญญา

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

บทคัดย่อ

เอกซ์โซโพถีแซกกาไรค์ผลิตโดยจุลินทรีย์หลายชนิด ในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้เอกซ์ โซโพถีแซกคาไรค์เป็นสารเพิ่มความหนืดและความคงตัวกันอย่างกว้างขวางเพื่อช่วยปรับปรุง ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการผลิตเอกซ์โซโพลีแซกคาไรด์ด้วย คณภาพของอาหาร Lactobacillus confusus CMU 198 โดยใช้น้ำมะพร้าวแก่เป็นแหล่งในโตรเจนและคาร์บอนทดแทน เพื่อลดต้นทุนการผลิต ทำการลดองก์ประกอบสามชนิดที่มีราคาแพงในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ใค้แก่ เปปโตน ยีสต์เอกซ์แทรกซ์ และบีฟเอกซ์แทรกซ์ ลงอย่างละครึ่งหนึ่งจาก 10.0, 5.0 และ 5.0 กรัมต่อลิตร เหลือ 5.0, 2.5 และ 2.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และแทนที่น้ำที่ใช้ในการเตรียมอาหาร จากการใช้อาหารนี้เกิดการสร้างเอกซ์โซโพลีแซกคาไรค์สูงสุดเท่ากับ 12.05 ด้วยน้ำมะพร้าว กรัมต่อถิตร ซึ่งคิดเป็นสองเท่าของเอกซ์โซโพถีแซกคาไรด์ที่สร้างในอาหารเดียวกันแต่ใช้น้ำในการ เตรียมอาหาร และสามารถลดต้นทุนการผลิตได้ประมาณสองเท่า ดังนั้น จึงนำสูตรอาหารที่ใช้น้ำ มะพร้าวนี้มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอกซ์โซโพลีแซกคาไรค์ในถังหมักแบบกวน ขนาด 5 ถิตร ทำการศึกษาผลของพีเอช (5.0-7.0), ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลทั้งหมด (40-120 กรัมต่อลิตร) อัตราการกวน (25-75 รอบต่อนาที) และอุณหภูมิ (20-40 องศาเซลเซียส) จากผลการ ทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมคือ พีเอชเท่ากับ 5.5 ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 100 กรัมต่อถิตร อัตราการกวนเท่ากับ 50 รอบต่อนาที และอุณหภูมิเท่ากับ 20 องศาเซลเซียส ภายใต้ สภาวะนี้เกิดการสร้างเอกซ์โซโพลีแซกคาไรด์สูงสุด 53.40 กรัมต่อถิตร คิดเป็นประมาณสี่เท่าของ เอกซ์โซโพถีแซกกาไรด์ที่สร้างจากการทดลองภายใต้สภาวะที่เหมาะสมในฟลาสก์และสามารถลด ต้นทุนการผลิตได้ประมาณสี่เท่า ดังนั้น จึงพิสูจน์ได้ว่าน้ำมะพร้าวแก่สามารถใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบ

ทดแทนในการแทนที่เปปโตน ยีสต์เอกซ์แทรกซ์ และบีฟเอกซ์แทรกซ์ ได้บางส่วน ในอาหาร MRS สูตรปรับปรุง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมมีค่าจลนพลศาสตร์ดังนี้ อัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.07 ต่อชั่วโมง สัมประสิทธิ์ผลได้ของเซลล์เท่ากับ 0.04 กรัมเซลล์ต่อกรัมสารอาหาร ผลได้ของการ เปลี่ยนสารอาหารเป็นผลิตภัณฑ์เท่ากับ 1.47 กรัมเอกซ์โซโพลีแซกคาไรด์ต่อกรัมสารอาหาร อัตรา จำเพาะของการเกิดเอกซ์โซโพลีแซกคาไรด์เท่ากับ 2.57 กรัมเอกซ์โซโพลีแซกคาไรด์ต่อลิตรต่อ ชั่วโมง อัตราจำเพาะของการใช้สารอาหารเท่ากับ 1.75 กรัมเซลล์ต่อลิตรต่อชั่วโมง และอัตราการ ผลิตเท่ากับ 2.02 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง



## ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright<sup>©</sup> by Chiang Mai University All rights reserved