บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไกลโคน จากจมูกถั่วเหลืองหมัก ออกแบบระบบถังหมักชีวภาพที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไอโซฟลาโวน ชนิดอะไกลโคน ตลอดจนศึกษาการสกัดและการผลิตไอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ที่ผลิตจากระบบถัง หมักชีวภาพที่ออกแบบได้

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต ใอ โซฟลา โวนชนิดอะ ใกล โคนจากจมูกถั่วเหลืองหมัก พบว่า ลักษณะของจมูกถั่วเหลืองก่อนหมัก ปริมาณเชื้อ Bacillus coagulans PR03 ปริมาณอากาศใน การหมัก และอุณหภูมิในการหมัก มีผลต่อปริมาณ ใอ โซฟลา โวนชนิดอะ ใกล โคนในจมูก ถั่วเหลืองหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p≤0.05) โดยจมูกถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการบดมีความ เหมาะสมใช้เป็น วัตถุดิบตั้งต้นในกระบวนการหมักเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิต ใอโซฟลา โวนชนิดอะ ใกล โคนได้มากกว่าการใช้จมูกถั่วเหลืองที่ผ่านการบด สำหรับการศึกษา ปริมาณเชื้อ Bacillus coagulans PR03 ที่เหมาะสม พบว่า ปริมาณเชื้อที่ร้อยละ 15 จะให้ปริมาณ ใอโซฟลา โวนชนิดอะ ไกล โคนมากที่สุดเท่ากับ 1,498.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง สำหรับปริมาณอากาศที่เหมาะสมในการหมัก พบว่า ปริมาณอากาศที่ 6 ลิตรต่อนาที โดยให้ปริมาณ ใอโซ ฟลา โวนชนิดอะ ใกล โคนสูงสุดที่ 1,172.83 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และการศึกษา อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก พบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณ ใอ โซฟลา โวน ชนิดอะ ใกล โคนรวมมากที่สุดเท่ากับ 1,521.39 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

การออกแบบระบบถึงหมักชีวภาพเพื่อผลิตใอโซฟลาโวนชนิดอะใกลโคน ประกอบด้วย ปั๊มอากาศ เครื่องวัดปริมาณอากาศ แผ่นกรองอากาศขนาด 0.2 ใมโดรเมตร ท่ออากาศ เครื่องหมุน ถึงความเร็วรอบต่ำ และถึงหมักชีวภาพแบบแนวนอนผลิตจากเหล็กปลอดสนิม ปริมาตรถึง 46 สิตร ปริมาตรผลิต 15 ลิตร สามารถผลิตโดยใช้จมูกถั่วเหลืองตั้งต้นประมาณ 7 กิโลกรัม สำหรับ การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตใอโซฟลาโวนชนิดอะใกลโดนของเชื้อ Bacillus coagulans PR03 ในระบบถึงหมักชีวภาพ พบว่า มีอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อจุลินทรีย์ (μ) ในระหว่างการหมัก เท่ากับ 0.095 ต่อชั่วโมง มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบตัวกลูโคซิเดสระหว่างการหมักสูงสุด เท่ากับ 2.7 มิลลิยูนิตต่อกรัม และมีอัตราการเปลี่ยนแปลงปริมาณใอโซฟลาโวนชนิดอะใกลโคน (q เฉม ฉะประการ) เท่ากับ 12.07 mg •hr ต่อ100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิต ใอโซฟลาโวนด้วยระบบถึงหมักชีวภาพ เท่ากับ 96 ชั่วโมง

การศึกษาการสกัดและการผลิต ใอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ที่ผลิตจากระบบถังหมักชีวภาพ พบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลในกระบวนการสกัดที่เหมาะสม คือ ร้อยละ 80 ซึ่งได้ปริมาณ ไอโซฟลาโวนเท่ากับ 394.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรในสารสกัดเอทานอล และเรซินที่เหมาะสมใน กระบวนการผลิตไอโซฟลาโวนบริสุทธิ์ คือ Amberlite XAD-4 โดยมีร้อยละของผลผลิตและร้อยละ ความบริสุทธิ์เท่ากับ 53.66 และ 31.00 ตามลำดับ



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved

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 ($p \le 0.05$). 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 μ m 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 ($q_{totalaglycones}$) 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.