

## บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ	ผลของเรซินและไคเมทริลซัลฟอกไซด์ต่อการผลิตวานิลลิน โดยการ ไบโอทรานส์ฟอร์มเมชันของจุลินทรีย์
ชื่อผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรสร สารพันโชติวิทยา <sup>1</sup> รองศาสตราจารย์ ดร. พัฒนา ศรีพลากิจ <sup>2</sup>
หน่วยงานที่สังกัด	<sup>1</sup> ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร <sup>2</sup> ภาควิชาเภสัชเคมีและเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร
หมายเลขโทรศัพท์	0-5596-1872
ได้รับทุนอุดหนุน	กองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร (งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2553)
จำนวนเงิน	สามแสนบาทถ้วน
ระยะเวลาทำการวิจัย	2 ปี

วานิลลิน (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) เป็นสารแต่งกลิ่นที่มีความสำคัญมากที่สุดชนิดหนึ่งและมีการใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร งานวิจัยนี้ศึกษาสภาวะการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมในการผลิตวานิลลินจากไอโซยูจินอลโดย *Bacillus sphaericus* ATCC 13805 และ *Streptomyces peucetius* var. *caesius* TISTR 3355 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส พีเอช 7.5 ความเร็วรอบ 220 รอบต่อนาที โดยศึกษา (1) ปริมาณไอโซยูจินอล 5, 10, 15, 20 กรัมต่อลิตร (2) ไคเมทริลซัลฟอกไซด์เพื่อช่วยละลายไอโซยูจินอล 20 กรัมต่อลิตร ในสัดส่วนไอโซยูจินอลต่อไคเมทริลซัลฟอกไซด์ 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 (โดยน้ำหนัก) และ (3) แอมเบอร์ไลต์ XAD-2 เรซิน 7, 15, 30% (โดยน้ำหนักเปียก) เพื่อลดผลการยับยั้งการผลิตจากสารผลิตภัณฑ์ วิเคราะห์ปริมาณวานิลลินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) และคำนวณเป็นร้อยละผลผลิตในหน่วยมิลลิกรัม เมื่อใช้สารตั้งต้น ไอโซยูจินอล 5 กรัมต่อลิตร *B. sphaericus* และ *Strep. peucetius* ผลิตวานิลลินได้สูงสุดประมาณร้อยละ 36 และ 48 ตามลำดับ การเติมไคเมทริลซัลฟอกไซด์ในไอโซยูจินอล 20 กรัมต่อลิตร ด้วยอัตราส่วนไอโซยูจินอลต่อไคเมทริลซัลฟอกไซด์ 1:2 สำหรับ *B. sphaericus* และ 1:4 สำหรับ *Strep. peucetius* ให้ผลผลิตวานิลลินสูงสุดใกล้เคียงกันประมาณ 4.2 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 23, วันที่ 11) และ 4.3 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 23, วันที่ 15) ตามลำดับ เมื่อเติมแอมเบอร์ไลต์เรซินร้อยละ 30 (โดยน้ำหนักเปียก) ณ วันที่ 10 ของการทดลอง *B. sphaericus* ผลิตวานิลลินได้สูงสุดประมาณ 3.7 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 13) ในขณะที่ *Strep. peucetius* ผลิตได้ประมาณ 3.6 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 16) วานิลลินที่ได้มีปริมาณต่ำเนื่องจากถูก

ดูดซับไว้บนแอมเบอร์ไลต์เรซิน และไม่สามารถแยกได้โดยใช้เอธิลอะซีเตท/เมทานอลเป็นสารชะล้าง ซึ่งแยกได้เพียงร้อยละ 19 เมื่อทำการทดสอบโดยไม่เติมแอมเบอร์ไลต์เรซิน เติมไคเมทริลซัลฟอกไซด์ในไอโซยูจินิล 5 กรัมต่อลิตร ในสัดส่วนไอโซยูจินอลต่อไคเมทริลซัลฟอกไซด์ 1:2 สำหรับ *B. sphaericus* และ 1:4 สำหรับ *Strep. peucetius* พบว่า ณ วันที่ 15 ของการทดลอง *B. sphaericus* และ *Strep. peucetius* ผลิตวานิลลินได้สูงสุด 0.9 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 20) และ 0.8 กรัมต่อลิตร (ร้อยละ 18) ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีแนวโน้มว่าวานิลลินอาจผลิตได้เพิ่มขึ้นหลังวันที่ 15 ของการทดลอง จากผลการวิจัยจึงสรุปได้ว่า *Streptomyces peucetius* var. *caesius* TISTR 3355 ซึ่งเป็นสายพันธุ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย มีประสิทธิภาพในการผลิตวานิลลินจากไอโซยูจินอลมากกว่า *Bacillus sphaericus* ATCC 13805 การเติมไอโซยูจินอลและไคเมทริลซัลฟอกไซด์ความเข้มข้นต่ำในระบบช่วยเพิ่มผลผลิตวานิลลินได้ อย่างไรก็ตามไคเมทริลซัลฟอกไซด์อาจมีผลให้การผลิตวานิลลินช้าลง และแอมเบอร์ไลต์เรซินยังไม่เหมาะสมในการใช้เพิ่มผลผลิตวานิลลินภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงที่ทำการศึกษา เนื่องจากปลดปล่อยวานิลลินออกมาได้น้อย จึงควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มการผลิตวานิลลินเพิ่มเติมต่อไป



## ABSTRACT

Title Effect of adsorbent resin and dimethyl sulfoxide on vanillin production by microbial biotransformation

By Assist. Prof. Dr. Aurasorn Saraphanchotiwitthaya<sup>1</sup>  
Assoc. Prof. Dr. Pattana Sripalakit<sup>2</sup>

Affiliation <sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Technology,  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University  
<sup>2</sup>Department of Pharmaceutical Chemistry and Pharmacognosy,  
Faculty of Pharmaceutical Sciences, Naresuan University

Tel. 0-5596-1872

Financial support by Research Funds from Yearly Budget, Naresuan University, 2010

Duration 2 year

---

Vanillin (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) is one of the most important flavors and is widely used in the food industry. In this study, we optimized the culture conditions for vanillin production from isoeugenol using *Bacillus sphaericus* ATCC 13805 and *Streptomyces peucetius* var. caesius TISTR 3355 in 50-mL reaction solution at 30±2°C, pH 7.5 and 220 rpm. Various amount of (1) isoeugenol of 5, 10, 15, 20 g/L, (2) dimethylsulfoxide (DMSO) to solubilize 20 g/L isoeugenol with isoeugenol : DMSO ratio of 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 (by weight) and (3) amberlite XAD-2 resin of 7, 15, 30% (wet weight) to avoid the product inhibition on vanillin production were investigated. Vanillin formation was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC) and %conversion of molar yield was calculated. Using 5 g/L isoeugenol as substrate, *B. sphaericus* and *Strep. peucetius* produced the maximal %conversion of vanillin at day 10, reaching 36% and 48%, respectively. Addition of DMSO to 20 g/L isoeugenol with isoeugenol:DMSO ratio of 1:2 for *B. sphaericus* and 1:4 for *Strep. peucetius* gave the highest vanillin concentration, reaching the similar yield of about 4.2 g/L (23%, day 11) and 4.3 g/L (23%, day 15), respectively. After 10 day reaction under the condition of adding 30% g of wet weight amberlite resin, the maximum vanillin concentration reached 3.7 g/L (13%) for *B. sphaericus* and 3.6 g/L (16%) for *Strep. peucetius*, respectively. Low vanillin yield may be due

to adsorbed vanillin in amberlite resin could not be well separated by eluting with ethyl acetate/methanol, showing the separation yield of approximately 19%. Under the optimized reaction conditions with the absence of amberlite, addition of DMSO to 5 g/L isoeugenol with isoeugenol: DMSO ratio of 1:2 for *B. sphaericus* and 1:4 for *Strep. peucetius* were studied. After 15-day reaction, *B. sphaericus* and *Strep. peucetius* produced the maximum vanillin yield of approximately 0.9 g/L (20%) and 0.8 g/L (18%), respectively. However, increasing of vanillin production after 15 day was suspected. It might be concluded that *Streptomyces peucetius* var. caesius TISTR 3355, cultured strain from Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) was effective to produce vanillin from isoeugenol more than *Bacillus sphaericus* ATCC 13805. Addition of low concentration of isoeugenol and DMSO in culture medium could improve vanillin production. However, DMSO may delay vanillin production. Amberlite resin was not a good candidate to enhance vanillin production under this culture condition due to its low desorption. Optimization for higher yield of vanillin production needs to be further investigated.