สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยประจำปีงบประมาณ 2551

เรื่อง

การเพิ่มผลผลิตกรดแลกติกL(+)จากเวย์โดยเชื้อผสมของ *Lactobacillus casei ATCC10863*และ*Lactococcus lactis* TISTR1401

Improvement of L(+)- Lactic Acid Production from Whey by Mixed Cultures of *Lactobacillus casei* ATCC10863and *Lactococcus lactis* TISTR 1401

โดย

สุขใจ ชูจันทร์

RCH
QD
305
.A2
สจ43ก
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 108257
วัน,เดือน,ปี 18 มิ.ย. 2553

b.12157119
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มผลผลิตกรดแลกติกL(+)จากเวย์โดยเชื้อผสมของ *Lactobacillus casei ATCC10863*และ*Lactococcus lactis* TISTR1401

Improvement of L(+)- Lactic Acid Production from Whey by Mixed Cultures of *Lactobacillus casei* ATCC10863and *Lactococcus lactis* TISTR 1401

โดย

สุชใจ ชูจันทร์

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง กรุงเทพฯ 10520

บทคัดย่อ

การผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยใช้เชื้อผสมของเชื้อ*Lactobacillus casei ATCC10863* ร่วมกับ *Lactococcuss lactis*TISTR 1401 พบว่าปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ หัวเชื้อ *Lactococcus lactis* ปริมาณร้อยละ5 และหัวเชื้อ *Lactobacillus casei* ร้อยละ10 เมื่อทำการหมักในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 11.40 กรัมต่อลิตร และมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8.00 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 3.50 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่60 และเมื่อทำการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีการควบคุมพีเอชที่6.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่ต้องพ่นอากาศ ใช้อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 16.68 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่48 มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8.00 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 2.00 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง มีผลผลิตกรดแลกติก ($Y_{P/S}$) 0.439 กรัมต่อกรัม และมีอัตราการผลิตกรดแลกติก 0.348 กรัมต่อลิตรชั่วโมง

คำสำคัญ : เวย์ กรดแลกติก

ABSTRACT

Lactic acid production from whey by mixed culture of *Lactobacillus casei* ATCC 10863and *Lactococcus lactis* TISTR 1401was studied. It was found that the optimal initial inoculum size in lactic acid production was 5% *Lactococcus lactis* and 10% *Lactobacillus casei*. Fermentations were conducted in 2 liters flask gave maximum level of lactic acid 11.40 g/l and a number of cells increased from 8.00 x 10^6 to 3.50 x 10^8cfu/ml in 60 hours. Lactic acid production by batch fermentation conducted in 2 liters fermentor at 37°C , pH 6.5 and 100 rpm produced maximum lactic acid 16.68 g/l in 48 hours and a number of cells increased from 8.00 x 10^6 to 2.00 x 10^8cfu/ml. The lactic acid yield($Y_{P/S}$) and its productivity were 0.439 g/g and 0.348 g/l.h, respectively.

Keywords : Whey Lactic acid

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. บทนำ

กรดแลกติก เป็นกรดอินทรีย์ที่พบตามธรรมชาติ โดยทั่วไปสามารถพบกรดแลกติกในร่างกายของมนุษย์ สัตว์ พืช และจุลินทรีย์ กรดแลกติกและอนุพันธ์ของกรดแลกติก เช่น แลกทีเลตเตตโมโนกลีเซอร์ไรด์ และแลกทีเลตเตตไดกลี-เซอร์ไรด์ของกรดไขมัน (lactylated mono-and diglycerides of fatty acids), glyceryl lactostearate และ glyceryl lactopalmitate ได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านอาหาร เภสัชกรรม อุตสาหกรรมฟอกหนัง และอุตสาหกรรมสิ่งทอ [4], [5] นอกจากนี้กรดแลกติกยังเป็นวัตถุดิบในการผลิตพอลีแลกติกแอซิด (polylactic acid) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ในการผลิตพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ ทดแทนพลาสติกที่ได้จากการสังเคราะห์จากปิโตรเลียม และยังใช้เป็นสารปรับความเป็นกรดด่าง (Acidity Regulator) ใช้เป็นวัตถุกันเสีย สำหรับแคลเซียมแลกเตตมีการใช้เป็นวัตถุทำให้คงรูป (Firming Agents) โดยใช้กับผลไม้ที่นำมาผลิตแยม รวมถึงใช้ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้เพื่อช่วยป้องกันการสลายตัวของเพกติน ส่วนในทางการแพทย์ใช้แคลเซียมแลกเตตเป็นส่วนผสมของยาลดกรดในกระเพาะ และช่วยรักษาการขาดแคลเซียมในร่างกาย [6]

การผลิตกรดแลกติกสามารถผลิตได้จากกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ แต่การผลิตทางเคมีจะทำให้ได้กรดแลกติกที่อยู่ในรูปผสม (DL- Lactic) ดังนั้นการทำให้บริสุทธิ์จึงมีค่าใช้จ่ายสูงและมีความยุ่งยาก แต่การผลิตโดยกระบวนการทางชีวภาพสามารถเลือกผลิตให้อยู่ในรูป D (-)Lactic หรือ L (+) Lactic ที่บริสุทธิ์ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการผลิต โครงสร้างที่บริสุทธิ์ของกรดแลกติกมีความสำคัญเป็นอย่างมากต่อคุณสมบัติทางกายภาพของพอลิแลกติกแอซิด (PLA) โดยสามารถเกิดพอลิเมอร์ทำให้การตกผลึกของ PLA เกิดได้มาก ซึ่งเหมาะสำหรับใช้ในการค้า สำหรับในการผลิตกรดแลกติกโดยกระบวนการหมักทางชีวภาพจะนิยมใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลกติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักในกระบวนการหมักเช่น *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp. และ *Saccharomyces cerevisiae* [8] ในการหมักทางชีวภาพนั้น การหมักแบบ batch, fed-batch, repeated batch และ continuous เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยการหมักแบบ batch เป็นการหมักที่ให้ปริมาณกรดแลกติกที่มีความเข้มข้นสูงกว่าการหมักแบบอื่น ขณะที่การหมักแบบ continuous, cell recycle และ fed-batch ให้ผลผลิตและอัตราการผลิตที่สูงกว่าการหมักแบบ batch

นอกจากนั้นการนำวัตถุดิบที่มีราคาถูกมาใช้เป็นซับสเตรตในการผลิตก็เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ ดังนั้นการนำวัสดุเหลือทิ้งหรือผลิตผลพลอยได้จากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น กากน้ำตาล เวย์ มาใช้ในการผลิตกรดแลกติก จะทำให้สามารถลดต้นทุนการผลิตได้ [9] ซึ่งเวย์นั้นเป็นผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็ง ปัจจุบันมีการนำเวย์ไปผลิตเป็นเวย์ผง เวย์เข้มข้น และเป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ ในการทดลองนี้จึงนำเวย์มาใช้เป็นซับสเตรตในการศึกษาการผลิตกรดแลกติกเพื่อเป็นการใช้เวย์ให้เกิดประโยชน์และเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์ได้

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 วัตถุดิบ

เวย์ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Minor Cheese Limited 9/1 หมู่ 6 ซอยทรัพย์จำปา ถนนมิตรภาพ ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา 30320

2.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย

เชื้อจุลินทรีย์ *Lactococcus lactis* TISTR 1401 และ *Lactobacillus casei* ATCC10863จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

2.3 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

เชื้อจุลินทรีย์ *Lactococcus lactis* และ *Lactobacillus casei* ถ่ายเชื้อจำนวน 2 ลูปลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่อยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 2 วัน เก็บน้ำหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (ปรับความขุ่นของน้ำหมักให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.5 ด้วยอาหารเหลวชนิดเดิมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว) จะได้หัวเชื้อเริ่มต้นที่นำไปใช้ในการวิจัย

2.4 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *Lactococcus lactis* TISTR 1401 และ *Lactobacillus casei* ATCC10863ในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร

สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลอง คือเวย์เติมยีสต์สกัดปริมาณ 5 กรัมต่อลิตร เปปโตนปริมาณ 10 กรัมต่อลิตร K_2HPO_4 ปริมาณ 0.25 กรัมต่อลิตร $MnSO_4.4H_2O$ ปริมาณ 0.03 กรัมต่อลิตร $MgSO_4.7H_2O$ ปริมาณ 0.1 กรัมต่อลิตร และ $CaCO_3$ ปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร โดยใช้เวย์เป็นตัวทำละลาย [7], [10] แบ่งการทดลองออกเป็น 9 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 5

ชุดที่ 2 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 10

ชุดที่ 3 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 5

ชุดที่ 4 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 10

ชุดที่ 5 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 5 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 5

ชุดที่ 6 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 10 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 10

ชุดที่ 7 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 5 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 10

ชุดที่ 8 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 10 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดที่ 9 : เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ 7.5 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ 7.5

เตรียมอาหารในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ปริมาตรฟลาสก์ละ 1.4 ลิตร ปรับค่าพีเอชให้ได้ 6.5 (± 0.1) ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 โมลาร์ หลังจากนั้นปิดจุกด้วยจุกยาง นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อตามชุดการทดลองทั้ง 9 ชุด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำการหมักในสภาวะนิ่ง เก็บน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วัดพีเอชตลอดการทดลอง วิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกด้วย HPLC โดยใช้คอลัมน์ Inertsil C8-3 มีโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ พีเอช 3 ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ เป็นเฟสเคลื่อนที่ อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตรวจวัดด้วย UV detector ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลแลคโตสโดยวิธีของ Dobois [3] วิเคราะห์หาปริมาณของเซลล์ทั้งหมดด้วยวิธี Total plate count (A.O.A.C. 2000) [2]

2.5 การศึกษาอัตราการกวนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกในถังหมักขนาด 2 ลิตร

สูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 2.4 ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อลงในถังหมักปริมาณ 1.4 ลิตร ปรับค่าพีเอชให้ได้ 6.5 (± 0.1) ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 5 โมลาร์ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อที่เหมาะสมจากการทดลองข้อ 2.4 ทำการหมักโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ควบคุมพีเอชที่6.5 ไม่ต้องพ่นอากาศ ผันแปรอัตราการกวนที่ความเร็ว 0 100 และ 200 รอบต่อนาที เก็บน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติก ปริมาณน้ำตาลแลคโตส ตามวิธีการในข้อ 2.4

2.6 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลทางสถิติวางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New multiple range test ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. ผลการทดลองและอภิปรายผล

3.1 ผลการศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *Lactococcus lactis* TISTR 1401 และ *Lactobacillus casei* ATCC10863ในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร

การทดลองชุดที่ 1 ซึ่งทำการหมักโดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ5 ทำการหมักในสภาวะนิ่ง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 6.81 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่24 หลังจากนั้นปริมาณกรดแลกติกมีแนวโน้มลดลง และเหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตส 26 กรัมต่อลิตร จากปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร สำหรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตของเซลล์ พบว่ามีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 2.30 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 2.95 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองดังภาพที่ 3.1

การทดลองชุดที่ 2 ทำการหมักโดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 8.48 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่24 เหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตส 15 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 3.00 x 10^6โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 6.60 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังภาพที่ 3.2

เมื่อเปรียบเทียบการทดลองชุดที่ 1 และ 2 พบว่าเมื่อหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* เพิ่มขึ้นจากร้อยละ5 เป็นร้อยละ10 ทำให้ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงขึ้น และน้ำตาลแลคโตสที่เหลือมีปริมาณลดลง แสดงว่าเมื่อมีปริมาณของหัวเชื้อเพิ่มขึ้นทำให้เชื้อใช้น้ำตาลเพื่อผลิตกรดแลกติกได้มากขึ้น

การทดลองชุดที่ 3 ทำการหมักโดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ5 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 7.36 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่84 มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 2.50 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 4.00 x 10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตส 23 กรัมต่อลิตร ดังภาพที่ 3.3

การทดลองชุดที่ 4 ทำการหมักโดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 9.04 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่84 มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 5.60 x 10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.00 x 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง และเหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตส 13 กรัมต่อลิตรดังภาพที่ 3.4

จากการทดลองพบว่า เมื่อใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่เท่ากันเชื้อ *L. casei* สามารถผลิตกรดแลกติกได้มากกว่าเชื้อ *L. lactis* และการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ5 แต่เชื้อไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสได้หมด ซึ่งอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ได้กรดแลกติกในปริมาณน้อย

การทดลองชุดที่ 5 เติมเชื้อ *L. lactis* ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ5 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 7.64 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 เหลือปริมาณน้ำตาล 11 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 6.00 x 10^6โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.40 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองดังภาพที่ 3.5 เมื่อเปรียบเทียบการทดลองที่ใช้เชื้อเดี่ยวในการทดลองชุดที่ 1, 2 และ3 กับเชื้อผสมในการทดลองชุดที่ 5 พบว่าการหมักที่ใช้เชื้อผสมได้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยว

การทดลองชุดที่ 6 เติมหัวเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 10.71 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 เหลือปริมาณน้ำตาล 8 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 1.00 x 10^6โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.50 x 10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองดังภาพที่ 3.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

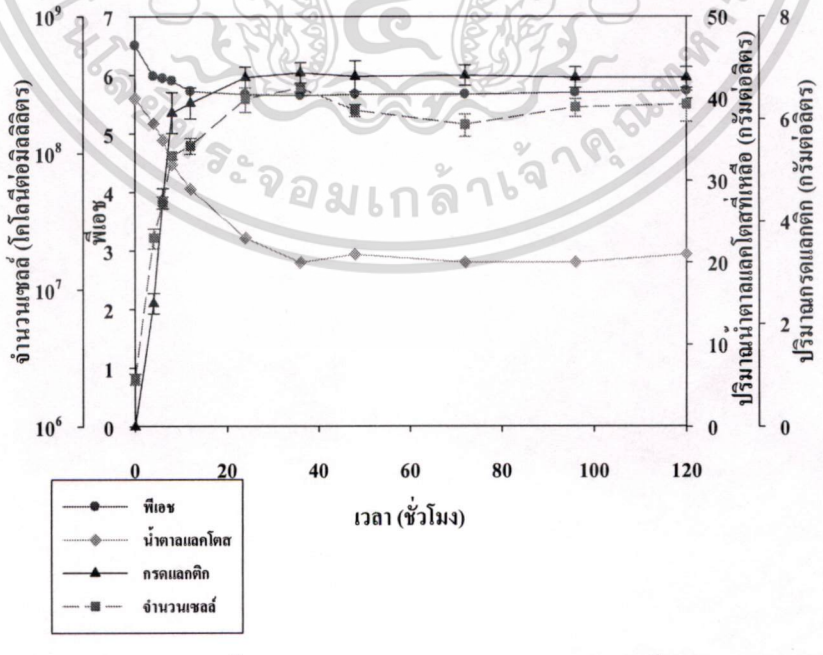
สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การทดลองชุดที่ 7 เติมหัวเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติก 11.40 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 เหลือปริมาณน้ำตาล 4 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8.00×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.80×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลองในชั่วโมงที่ 120 ดังภาพที่ 3.7

การทดลองชุดที่ 8 เติมหัวเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ5 ได้ปริมาณกรดแลกติก 10.70 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 เหลือปริมาณน้ำตาล 7 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 3.00×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.52×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ดังภาพที่ 3.8

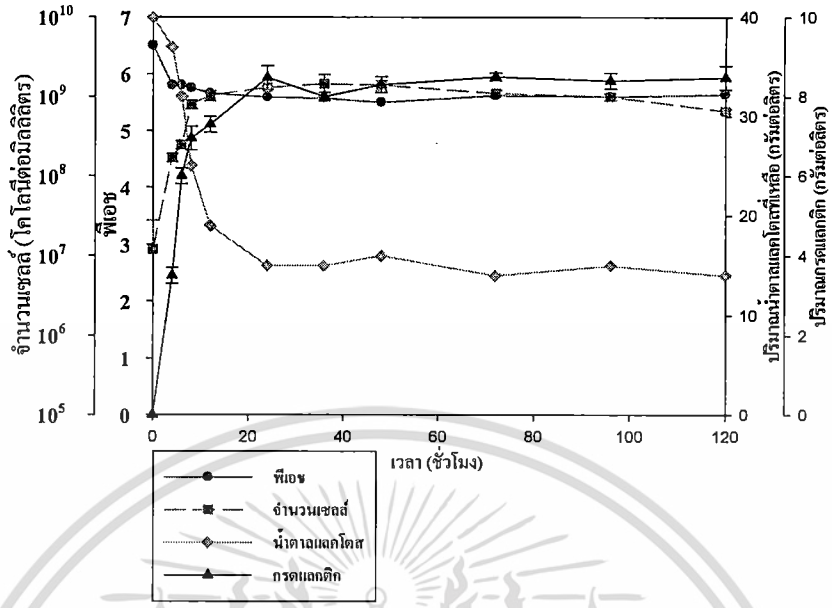
การทดลองชุดที่ 9 เติมหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ7.5 ร่วมกับเชื้อ *L. casei* ร้อยละ7.5 ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 9.14 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 เหลือปริมาณน้ำตาล 11 กรัมต่อลิตร มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 3.30×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 1.00×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร แสดงดังภาพที่ 3.9

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลแลคโตสจากการหมักที่ใช้เชื้อเดี่ยวกับเชื้อผสม พบว่าการใช้เชื้อผสมในการผลิตเหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตสน้อยกว่า โดยชุดการทดลองที่ 1 ถึง 4 ซึ่งใช้เชื้อเดี่ยว เหลือน้ำตาลแลคโตส 26, 15, 23 และ 13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แต่ชุดการทดลองที่ 5 ถึง 9 ซึ่งใช้เชื้อผสม เหลือน้ำตาลแลคโตส 11, 8, 4, 7 และ 11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้การใช้เชื้อผสมได้ปริมาณกรดแลกติกสูงเนื่องจากเชื้อใช้น้ำตาลแลคโตสเพื่อเปลี่ยนให้เป็นกรดแลกติก ซึ่งถ้าเชื้อใช้น้ำตาลในปริมาณมากจะส่งผลให้ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงขึ้นตามไปด้วย

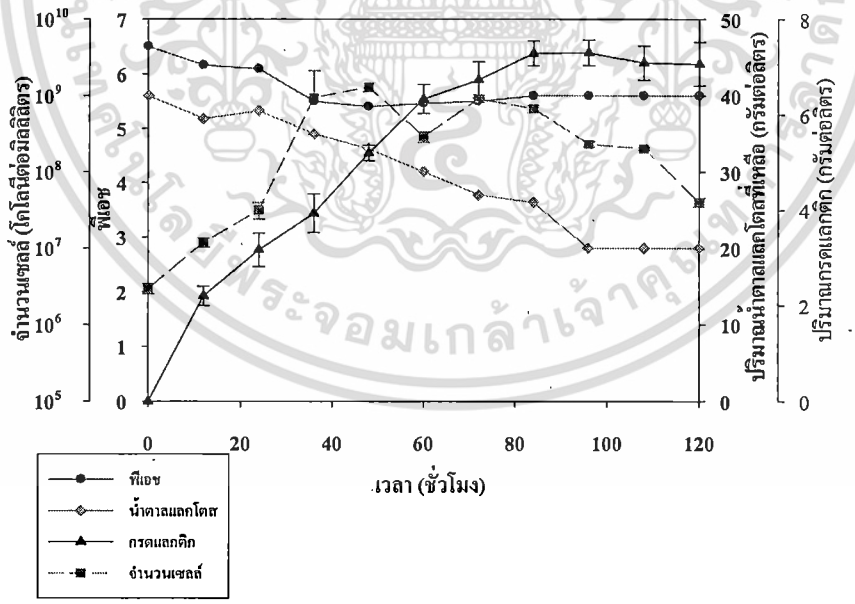


ภาพที่ 3.1 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตสและจำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
108257

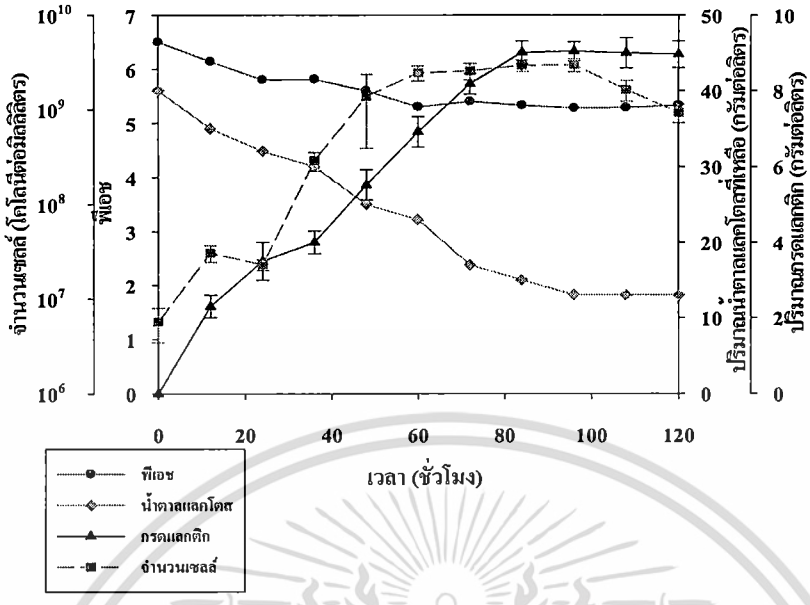


ภาพที่ 3.2 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลกโตสและ จำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ10

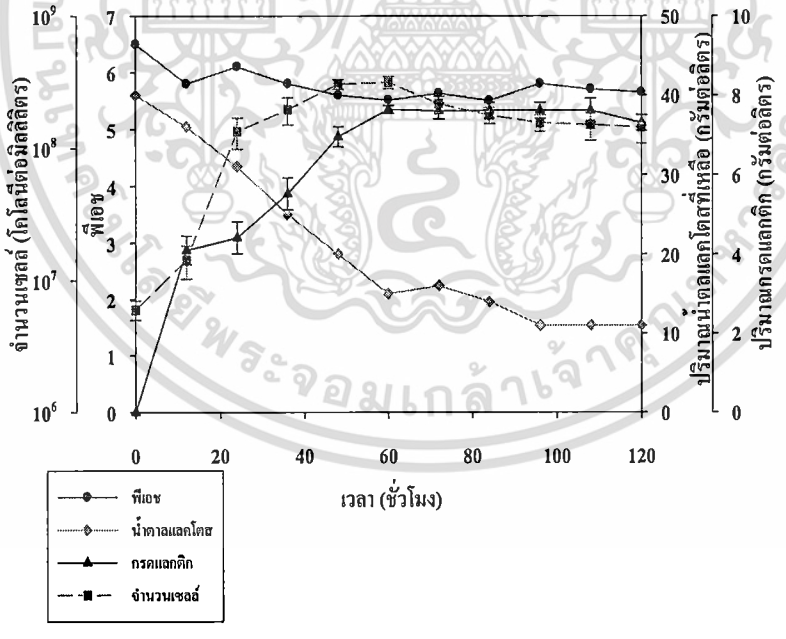


ภาพที่ 3.3 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ*Lactobacillus casei* ร้อยละ5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

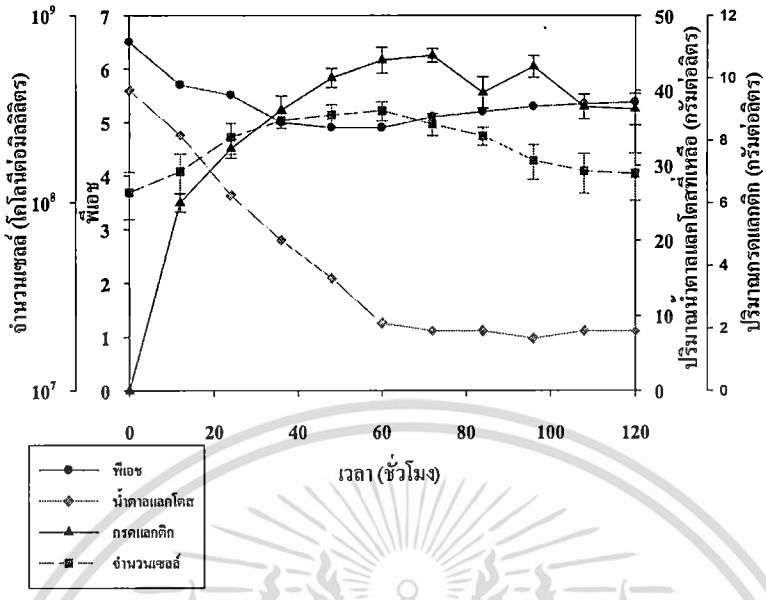


ภาพที่ 3.4 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ*Lactobacillus casei* ร้อยละ10

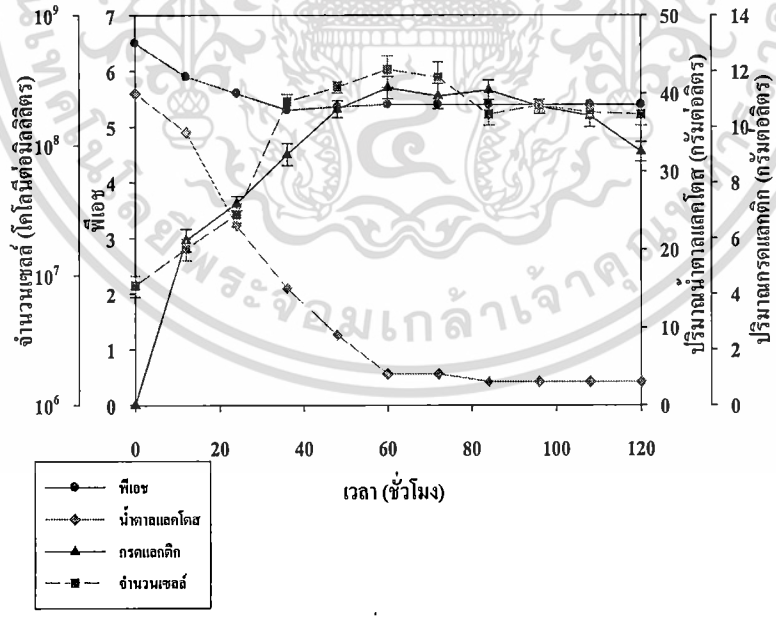


ภาพที่ 3.5 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ร้อยละ5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

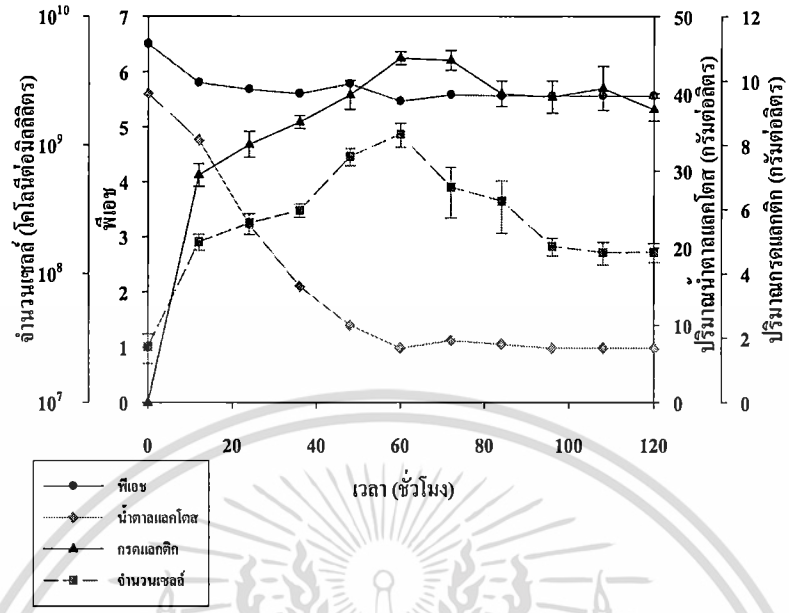


ภาพที่ 3.6 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ร้อยละ 10

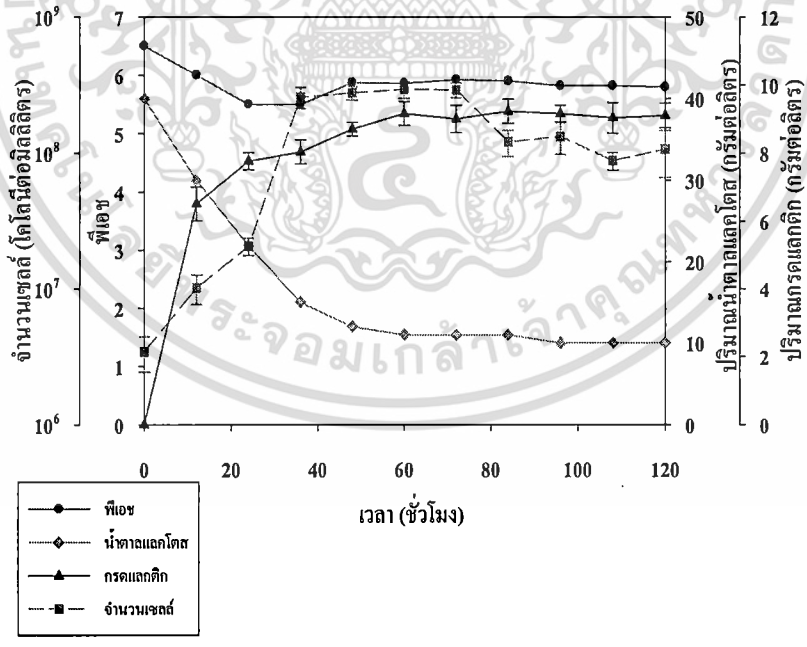


ภาพที่ 3.7 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ร้อยละ10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.8 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ *Lactococcus lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ร้อยละ 5



ภาพที่ 3.9 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และจำนวนเซลล์โดยเชื้อ*Lactococcus lactis* ร้อยละ7.5 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ร้อยละ7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนั้นนำปริมาณกรดแลกติกมาวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อเลือกใช้หัวเชื้อเริ่มต้นที่ให้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดมาทำการวิเคราะห์ในหัวข้อต่อไป ผลการวิเคราะห์ผลทางสถิติดังแสดงในตารางที่3.1 พบว่าการใช้เชื้อผสมของเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 จะได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเมื่อเทียบกับการทดลองชุดอื่นๆ คือได้ปริมาณกรด 11.4 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือการใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 และหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ10 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ 5 ซึ่งสามารถผลิตกรดแลกติกได้ปริมาณ 10.71 และ 10.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ตารางที่ 3.1 แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดแลกติกจากการศึกษาปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อผสม

ชุดการทดลอง	ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณน้ำตาลแลคโตสที่เหลือ (กรัมต่อลิตร)
1	5% *L. lactis*	6.81^{f}	21
2	10% *L. lactis*	8.48^{d}	14
3	5% *L. casei*	7.36^{e}	20
4	10% *L. casei*	9.04^{c}	13
5	5% *L. lactis* and 5% *L. casei*	7.64^{e}	11
6	10% *L. lactis* and 10% *L. casei*	10.71^{b}	8
7	5% *L. lactis* and 10% *L. casei*	11.40^{a}	3
8	10% *L. lactis* and 5% *L. casei*	10.70^{b}	7
9	7.5% *L. lactis* and 7.5% *L. casei*	9.14^{c}	10

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณกรดแลกติกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณกรดแลกติกมีความแตกต่างกันทางสถิติ

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติแบบ CRD และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าการใช้เชื้อผสมของเชื้อ *L. lactis* ร่วมกับ *L casei* ในการผลิตกรดแลกติก สามารถให้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยวของเชื้อ *L. lactis* หรือเชื้อ *L. casei* เพียงชนิดเดียว โดยการใช้เชื้อเดี่ยวของเชื้อ *L. lactis* ปริมาณร้อยละ5 และร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติก 6.81 และ 8.48 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อใช้เชื้อเดี่ยวของเชื้อ *L. casei* ปริมาณร้อยละ5 และ ร้อยละ10 ได้ปริมาณกรดแลกติก 7.36 และ 9.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองที่ใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* และเชื้อ *L. casei* เพียงเชื้อเดียว ในการหมักโดยใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในปริมาณร้อยละ10 สามารถผลิตกรดแลกติกได้ปริมาณสูงกว่าการใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ5 แต่ในการหมักที่ใช้เชื้อผสมได้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าการหมักที่ใช้เชื้อเดี่ยวในปริมาณร้อยละ 10

มีการศึกษาอิทธิพลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการผลิตกรดแลคติก จากเชื้อ *Enterococcus faecalis* RYK 1 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุคโตส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลกาแลคโตส กลีเซอรอล ไซโลส เวย์และแป้ง พบว่าในน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลฟรุกโตสและน้ำตาลมอลโตส จุลินทรีย์สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงถึง 18.18 17.95 และ 16.80 ตามลำดับ ส่วนน้ำตาลกาแลคโตส น้ำตาลแลกโตส กลีเซอรอล โซโลส เวย์และแป้งจะให้ปริมาณกรดแลคติก 2.7, 1.26, 2.24, 1.68, 1.83 และ 1.19 ตามลำดับซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำ [11] ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองในครั้งนี้ที่ใช้เวย์เป็นสับสเตรตจะให้ปริมาณกรดแลกติกในปริมาณที่ต่ำ

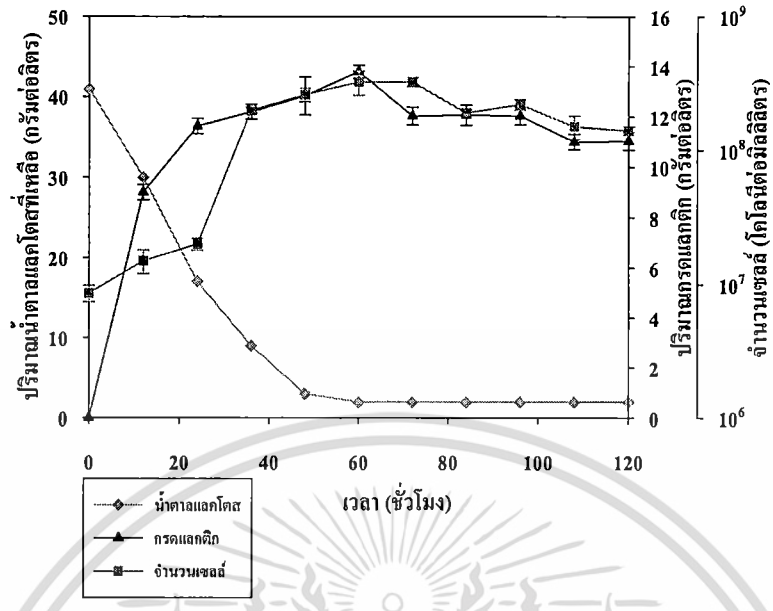
3.2 ผลการศึกษาอัตราการกวนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกในถังหมักขนาด 2 ลิตร

การศึกษาอัตราการกวนในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 ที่มีการควบคุมสภาวะที่ใช้ในการหมัก คือ ควบคุมพีเอชที่6.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ไม่มีการพ่นอากาศ พบว่าในการหมักในถังหมักที่มีการกวน 0 รอบต่อนาที (ไม่มีการกวน) ปริมาณกรดแลกติกเมื่อเริ่มทำการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนถึงชั่วโมงที่60 มีปริมาณกรดแลกติก 13.90 กรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงที่สุดหลังจากนั้นปริมาณกรดแลกติกเริ่มมีปริมาณลดลงจนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลแลคโตสเมื่อเริ่มการทดลองมีปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นมีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จนเหลือปริมาณ 2 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่60 หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลมีปริมาณคงที่ตลอดการทดลอง ดังภาพที่ 3.10

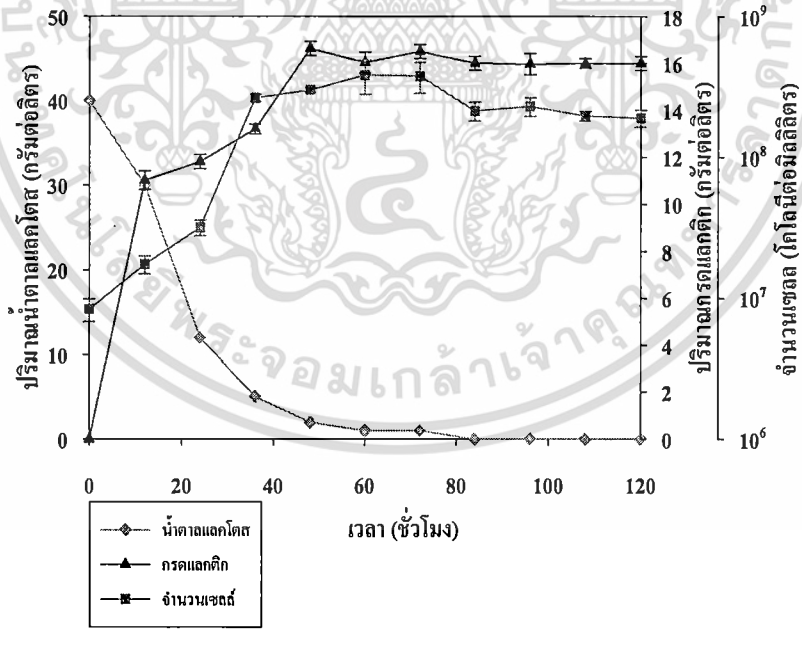
การทดลองในถังหมักที่มีการกวน 100 รอบต่อนาที มีปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 16.68 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่48 เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีปริมาณกรดแลกติกอยู่ในถังหมัก 16.00 กรัมต่อลิตร สำหรับปริมาณน้ำตาลแลคโตสมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆเมื่อเริ่มทำการทดลอง จนถึงชั่วโมงที่84 พบว่าไม่มีน้ำตาลเหลืออยู่ในถังหมัก แสดงว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดีและเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสไปเป็นกรดแลกติกได้หมดดังภาพที่ 3.11

สำหรับการทดลองที่มีการกวน 200 รอบต่อนาที มีปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 7.00 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่48 หลังจากนั้นปริมาณกรดไม่เพิ่มขึ้นอีก แต่มีปริมาณลดลงเรื่อยๆ จนสิ้นสุดการทดลอง น้ำตาลแลคโตสเริ่มต้นมีปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร มีปริมาณลดลงเหลือ 24 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่36 หลังจากนั้นมีปริมาณคงที่ตลอดการทดลอง ดังภาพที่ 3.12 สาเหตุที่ใช้อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ได้กรดแลกติกปริมาณน้อยเนื่องจากเมื่อใช้อัตราการกวนมากเกินไปจะส่งผลทำให้เกิดแรงเฉือน ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ทำให้เซลล์ได้รับบาดเจ็บ [1] ส่งผลให้เชื้อผลิตกรดได้ลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

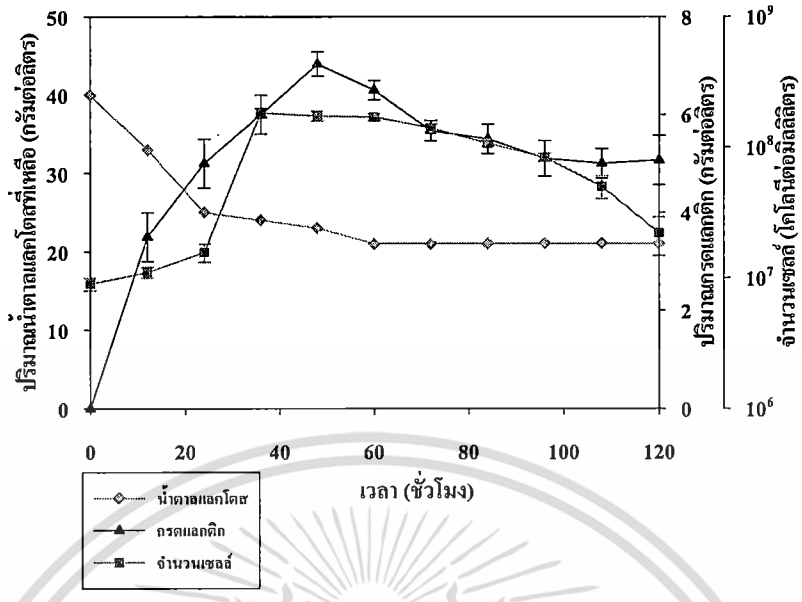


ภาพที่ 3.10 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส ในถังหมักที่มีอัตราการกวน 0 รอบต่อนาที



ภาพที่ 3.11 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส และในถังหมักที่มีอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.12 แสดงปริมาณกรดแลกติก น้ำตาลแลคโตส ในถังหมักที่มีอัตราการกวน 200 รอบต่อนาที

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้ในถังหมักโดยการวิเคราะห์ผลทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 พบว่าทุกชุดการทดลองให้ผลการผลิตกรดแลกติกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 และในการหมักที่มีการกวน 100 รอบต่อนาที ให้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด ดังนั้นในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อผสมของเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 ในถังหมักที่มีการกวน 100 รอบต่อนาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

ตารางที่ 3.2 แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณกรดแลกติกจากการศึกษาอัตราการกวนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

อัตราการกวน (รอบต่อนาที)	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตกรดแลกติก (กรัมต่อกรัม)	อัตราการผลิตกรดแลกติก (กรัมต่อลิตรชั่วโมง)
0	13.90[b]	0.366	0.232
100	16.68[a]	0.439	0.348
200	7.00[c]	0.412	0.146

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง ปริมาณกรดแลกติกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง ปริมาณกรดแลกติกมีความแตกต่างกันทางสถิติ

หมายเหตุ เปรียบเทียบค่าความแตกต่างทางสถิติแบบ CRD และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยใช้เชื้อผสมระหว่างเชื้อ *Lactococcus lactis* TISTR 1401 ร้อยละ5 ร่วมกับ *Lactobacillus casei* ATCC10863ร้อยละ10 ที่ทำการหมักในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร มาวิเคราะห์ผลทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ95 เปรียบเทียบกับการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร แสดงในตารางที่ 3.3 พบว่าเมื่อทำการหมักในถังหมักใช้ระยะเวลาในการหมักน้อยกว่าในฟลาสก์ ค่าของผลผลิต และอัตราการผลิตกรดแลกติก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่ปริมาณกรดแลกติกมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยการหมักในถังหมักได้ปริมาณกรดสูงกว่าในฟลาสก์ เนื่องจากในถังหมักมีการควบคุมพีเอชที่6.5 ตลอดการทดลองซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก และมีการกวนที่ทำให้อาหารคลุกเคล้ากับเชื้อได้ดี ทำให้เชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้มากขึ้นส่งผลให้มีปริมาณกรดสูงขึ้นกว่าการหมักในฟลาสก์ที่ทำการหมักในสภาวะนิ่ง และไม่มีการควบคุมพีเอช

ตารางที่ 3.3 แสดงการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของปริมาณ ผลผลิต และอัตราการผลิตกรดแลกติกในการหมักในฟลาสก์เปรียบเทียบกับถังหมัก

สภาวะที่ใช้ในการหมัก	ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	ผลผลิตกรดแลกติก (กรัมต่อกรัม)	อัตราการผลิตกรดแลกติก (กรัมต่อลิตรชั่วโมง)
ฟลาสก์	60	11.40	0.316	0.190
ถังหมัก	48	16.68	0.439	0.348
ค่า p-value		0.001**	0.155^{ns}	0.317^{ns}

หมายเหตุ

** ค่า p-value < 0.01 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 99

* ค่า p-value อยู่ในช่วง 0.01 < p-value < 0.05 = แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

^{ns} ค่า p-value > 0.05 = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

4. สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อผสมของเชื้อ *Lactococcus lactis* TISTR 1401 ร่วมกับเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC10863พบว่าปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกคือ การใช้หัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อ *L. lactis* ร้อยละ5 ร่วมกับ *L. casei* ร้อยละ10 สามารถผลิตกรดแลกติกได้ปริมาณ 11.4 กรัมต่อลิตร เหลือปริมาณน้ำตาลแลคโตส 3 กรัมต่อลิตร จากปริมาณน้ำตาลแลคโตสเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร และมีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8.00×10^6 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 3.50×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่60 แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองจำนวนเซลล์ลดลงเหลือ 1.80×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งจากการใช้เชื้อผสมในการผลิตกรดแลกติกจะได้ปริมาณกรดสูงกว่าการใช้เชื้อเดี่ยวเพียงเชื้อเดียว เมื่อทำการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร สภาวะที่ใช้ในการหมักคือ มีการควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ควบคุมพีเอชที่6.5 ไม่ต้องพ่นอากาศ ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราการกวน100 รอบต่อนาที ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุด 16.68 กรัมต่อลิตร ใช้ระยะเวลาในการหมัก 48 ชั่วโมง ได้ผลผลิตกรด และอัตราการผลิตกรดแลกติก 0.439 กรัมต่อกรัม และ 0.348 กรัมต่อลิตรชั่วโมง ตามลำดับ มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจาก 8.00×10^{6} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เป็น 2.00×10^{8} โคโลนีต่อมิลลิลิตร เมื่อสิ้นสุดการทดลอง และข้อดีของการหมักในถังหมัก คือช่วยลดระยะเวลาในการหมักให้น้อยลงและได้ปริมาณกรดแลกติกสูงกว่าการหมักในฟลาสก์

5. เอกสารอ้างอิง

[1] อรไท สุขเจริญ. 2543. **วิศวกรรมชีวเคมี**. กรุงเทพฯ :มหาวิทยาลัยรามคำแหง.

[2] A.O.A.C. 2000. **Official Method of Analysis of A.O.A.C. Internationa**l. 17th ed. A.O.A.C. International.The United States of America.

[3] Dobois, M., Gijjes, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith F. 1956. "Colorimetric method for determination of sugars and related substrate." **Analitical Chemistry**. 28 : 350-356.

[4] Kadam, S.R., Patil, S.S., Bastawde, K.B., Khire, J. M. and Gokhale, D.V. 2006. "Strain improvement of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 for lactic acid production." **Process Biochemistry**. 41 : 120 – 126.

[5] Koyama, K. and M.Seki. 2004. Cultivation of yeast and plant cell entrapped in the low-viscousliquid-core of an alginate membrane capsule prepared using polyethylene glycol. **J.Biosci.Bioeng**.97(2):111-118.

[6] Milcent, S. and H. Carrere. 2001. Clarification of lactic acid fermentation broths. **Sep.Pur.Technol**. 22-23:393-401.

[7] Mostafa, N.A. 1995. "Production of lactic acid from whey with agar immobilized cells in a continuous packed tubular, reactor." **Energy Convers.** 37 : 253-260.

[8] Salminen, S., Wright, A. and Ouwehand, A. 2004. Lactic acid bacteria. 3 rd ed. New York : Marcel Dekker.

[9] Tango, M.S.A. and A.E.Ghaly.1999. Effect of temperature on lactic acid production from cheese whey using *Lactobacillus helveticus* under batch condition. **Biomass Bioenergy**. 16:61-78.

[10] Youseef, C.B., Guillou, V. and Dichara, A.O. 2000. "Modelling and adaptive control strategy in lactic acid fermentation process." Control of **Engineering Practice**. 8 : 1297-1307.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[11] Yun, J.S., Wee, Y.J. and Ryu, H.W. 2003. " Production of optically pure L(+) lactic acid from various carbohydrates by batch fermentation of *Enterococcus faecalis* RKY1." **Enzyme and Microbial Technology**. 33 : 416-423.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้