23138

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชนิดและการแพร่กระจายของสังคมปะการังแข็งในอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะทะเลใต้ อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช

Species and distribution of hard-coral communities in Mu Ko Thale Tai Nation Park, Khanom District, Nakhon Si Thammarat Province

2ฟ
ม7ะ
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 95256
วัน เดือน,ปี 15 JUN 2009

.b 11882A1A
.i.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง ชนิดและการแพร่กระจายของสังคมปะการังแข็งในอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะทะเลใต้ อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช

Species and distribution of hard-coral communities in Mu Ko Thale Tai Nation Park, Khanom District, Nakhon Si Thammarat Province

ชื่อนักศึกษา นางส

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษ

ได้พิจารณาเห็นชอบ

อาจารย์ที่ปรึกษา..... .....

(ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....

(รศ.ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ 10 เดือน พ.ย. พ.ศ. 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ชนิดและการแพร่กระจายของสังคมปะการังแข็งในอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะทะเลใต้ อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช

Species and distribution of hard-coral communities in Mu Ko Thale Tai Nation Park, Khanom District, Nakhon Si Thammarat Province

การศึกษาชนิด การแพร่กระจาย และโครงสร้างสังคมของระบบนิเวศแนวปะการังบริเวณเกาะต่างๆ ของอุทยานแห่งชาติหมู่เกาะทะเลใต้ อ. ขนอม จ.นครศรีธรรมราช ซึ่งประกอบด้วยเกาะวังในเกาะวังนอก เกาะรา slope ของแนว
ปะการัง ด้วยวิธี Line ะการังมีชีวิตปก
คลุมพื้นที่มากกว่าครึ่ นปะการังมีชีวิต
ต่อปะการังตายเฉลี่ย งแข็งทั้งหมด 33
ชนิด ส่วนใหญ่มีรูปร่า หลากหลายของ
ชนิด (Species dive เบมีค่ามากที่สุด
อย่างไรก็ตามสถานภา และมีแนวโน้ม
ที่จะเสื่อมโทรมลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ขอขอบคุณดร.มณฑล แก่นมณี อาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาช่วยแนะนำการเขียนรายงาน ให้คำปรึกษา พร้อมทั้งตรวจ และแก้ไขรายงาน ขอขอบคุณโครงการพัฒนาองค์ความรู้ และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย (Biodiversity Research and Training Program-BRT) ที่กรุณาเป็นผู้สนับสนุนทุนในการวิจัย ขอบคุณคณะผู้สำรวจในโครงการวิจัยกระบวนการเพิ่มจำนวนประชากร และการเปลี่ยนแปลงสังคมปะการังแข็งขนาดเล็กในเขตอุทยานแห่งชาติขนอม หมู่เกาะทะเลใต้ ซึ่งได้แก่ คุณ James True (University of Hongkong), คุณศรีสกุล ภิรมย์วราภรณ์, คุณศักดิ์อนันต์ ปลาทอง และคุณลลิตา ปัจฉิม ซึ่งได้ให้คำแนะนำในเรื่องต่างๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่อุทยานแห่งชาติขนอม หมู่เกาะทะเลใต้ อ.ขนอม จ.นครศรีธรรมราช ที่อำนวยความสะดวกแก่ทีมส กท่านที่กรุณาให้คำแนะนำ และสุดท้า ร์ประจำภาควิชาวิทยาศาสตร์การประ

วเมธิณี อยู่เจริญ

เาคม พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ค
สารบัญ ..... ง
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญรู ..... ฉ

บทที่ 1 1
..... 1
..... 2
..... 2
..... 2

บทที่ 2 3
..... 3
..... 4
..... 6
2.2.1 การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางเคมี 6
2.2.2 การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีทางชีวภาพ 7
2.3 การนำกรดแลกติกมาประยุกต์ใช้ 8
2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติก 10
2.4.1 ลักษณะโดยทั่วไป 10
2.4.2 แหล่งที่พบ 10
2.4.3 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียแลคติก 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.4 ความทนทานต่อการยับยั้งการเจริญโดยระบบทางเดินอาหาร 11

2.4.5 การสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นของแบคทีเรียแลคติก 12

2.4.6 สารต้านเชื้อราจาก Lactic acid bacteria (LAB) 13

2.5 [illegible] 22

[illegible] 22

[illegible] 23

[illegible] 32

[illegible] 24

[illegible] 25

2.6 [illegible] 25

บทที่ 3 วิธีดำ[illegible]

3.1 อุ[illegible] 30

[illegible] 30

[illegible] 30

3.2 [illegible] 31

3.3 [illegible] 32

3.3.1เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ใน โครงงานพิเศษ..... 32

3.3.2 การเก็บรักษาเชื้อที่ใช้ในการวิจัย 32

3.3.3 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น 32

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการลดลอง 32

3.5 การศึกษาสภาวะต่างๆที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก 33

3.5.1 ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก 33

3.5.2 ศึกษาปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก..... 34

3.5.3 ศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตกรดแลกติก 34

ในฟลาสก์และถังหมักขนาด 2 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 การวิเคราะห์ผล 35
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 36

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การ..... 39
โ
4.2 ก..... 42
4.3 ค..... 48
บทที่ 5 สรุป..... 57

เอกสารอ้างอิ..... 59
ภาคผนวก ก..... 62
ภาคผนวก ข..... 64
ภาคผนวก ค..... 77
ภาคผนวก ง..... 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลกติก 4

2.2 สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของเชื้อ *Lactobacillus sp.* สายพันธุ์ต่าง 16

2.3 ลักษณะและความแตกต่างของ *Lactobacillus sp* 20

4.1 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก..... 38
โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

4.2 ผลข 44
โดย

4.3 ผลข 52
ที่ทำ
ในถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างของ L (+) lactic acid และ D (-) lactic acid 4
2.2 กรดพอลิแลกติกแอซิด 5
2.3 ไซคลิกพอลิเมอร์ของกรดแลกติก 5
2.4 ไดอแกรมการใช้กรดแลกติกทางการค้าและการนำมาประยุกต์ในรูปแบบต่าง ๆ 9
2.5 โคร 13
2.6 วิถี I 17
Ob
2.7 วิถี I 18
ขอ
2.8 วิถีท 19
2.9 ตัวอ 26
4.1 การ 39
ในอ
4.2 ปริม 39
ในอ
4.3 กรา 40
ขอ
4.4 ปริม 41
ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน
4.5 การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 42
ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน
4.6 การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ 43
ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นแหล่งคาร์บอน
4.7 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์..... 45
ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่าง ๆ กันเป็นแหล่งคาร์บอน
4.8 กราฟแสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ของการผลิตกรดแลกติก 45
จากความเข้มข้นกลูโคสที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.9 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีการเปลี่ยนแปลง 46
โดยการเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลกลูโคส
ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นแหล่งคาร์บอน
4.10 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 47
ในอาหารสังเคราะห์ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน
4.11 การ 47
ปริม
ที่เกิ
ภาย ง
4.12 การ 50
ของ
และ
4.13 ปริม 10863 51
ในส
4.14 การ 51
ในร
4.15 ปริม 53
ในร
4.16 กราฟแสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติของการเปรียบเทียบ 53
การผลิตกรดแลกติกจากอาหารและสภาวะที่เหมาะสม
ในระดับฟลาสก์และถังหมักขนาด 2 ลิตร
4.17 กราฟแสดงผลที่ได้ต่างๆ ในการหมักกรดแลกติก โดยเชื้อ 54
L. casei ATCC ใน ฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ชุดแรก
ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.18 กราฟแสดงผลที่ได้ต่างๆ ในการหมักกรดแลกติก โดยเชื้อ *L. casei* ATCC 55
ในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ชุดที่สอง ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร
4.19 กราฟแสดงผลที่ได้ต่างๆ ในการหมักกรดแลกติก โดยเชื้อ *L. casei* ATCC..... 56
ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

กรดแลกติกหรือกรดนมเป็นกรดอินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในอาหาร พบตามธรรมชาติในนม เปรี้ยว ผักดองชนิดต่าง ๆ เนยแข็ง เป็นต้น (Gardner, 1972) นิยมใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ที่มีความจำเป็นต่อวงการอุตสาหกรรมอาหารมากเพราะ กรดแลกติกที่เติมลงไปในอาหารนั้นจะเป็นตัวที่ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสของอาหาร ช่วยควบคุมความเป็นกรดด่าง ยืดอายุการเก็บของอาหาร ช่วยป้องกันการเจริญของจุ[illegible]รหืนและปรับปรุงลักษณะของ[illegible]นำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาห[illegible]เสาหกรรมการทำพลาสติกที่[illegible]3)

กร[illegible]วภาพ ในการผลิตกรดแลกติ[illegible]ำให้บริสุทธิ์ ส่วนกระบวนกา[illegible]เนื่องจากการผลิตกรดแลกติก[illegible]งได้มีการศึกษาหาวิธีที่สามาร[illegible]กจากนี้ยังสามารถปรับปรุงกร[illegible]อาหารที่เหมาะสม (senthuran [illegible]

ดัง[illegible]ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแล[illegible]ย น้ำตาลแลกโตส น้ำตาลทรา[illegible]ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 โดยการใช้อาหารสังเคราะห์ในการผลิต เพื่อเป็นแนวทางในการหาแหล่งคาร์บอนที่ดีและเหมาะสมสำหรับการเพิ่มผลผลิตของกรดแลกติกโดยกระบวนการทางชีวภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1.2.1 ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์

1.2.2 ศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก ได้แก่

1) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ศึกษาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอน

1.2.3 ศึกษาศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกจากเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในระดับฟลาสก์เปรียบเทียบกับถังหมักขนาด 2 ลิตร

1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ

ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก ได้แก่ ศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก การศึกษาการผลิตกรดแลกติกในระดับฟลาสก์เปรียบเทียบกับการผลิตในถังหมักขนาด 2 ลิตร และวิเคราะห์หาค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ กรดแลกติก น้ำตาลชนิดต่าง ๆ ที่นำมาทดลองทั้งก่

1.4 ขั้นตอ

1.4.1 รุ

1

1

1.4.2 ก

1

1

1

ร์บอนและ

ก

1.4.3 ก

1.4.4 ก

1.5 ประโยชนที่คาดวาจะเกรบ

1.5.1 สามารถผลิตกรดแลกติก โดยกระบวนการทางชีวภาพโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

1.5.2 ทราบถึงสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 เพื่อใช้เป็นแนวทางศึกษาและพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรมต่อไป

1.5.3 ทำให้ทราบถึงศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกที่ได้จากกระบวนการหมักอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 คุณสมบัติของกรดแลกติก

กรดแลกติกเป็นอินทรีย์กรดที่พบมากในธรรมชาติ และมีการใช้ในอาหาร จะต่างกับกรดอื่นคือมีลักษณะหนืดและเป็นของเหลวที่ไม่มีกลิ่น สำหรับ food – grade D, L- lactic acid ที่ขายทั่วไปจะเป็นสารละลายที่ไม่มีสี มีกลิ่นเฉพาะตัวและมีความเข้มข้น ร้อยละ 50 และ ร้อยละ 80

กรดแ ...ง่ต่างๆ ทั้งชนิดที่อัด
คาร์บอนไดอ ...ง pepper oleoresin
นอกจากนี้ยัง ...ต่างและเพิ่มกลิ่นรส
ในอุตสาหกร ...pping ของไข่ดาว
lactylated m ...เป็น emulsifier ใน
ผลิตภัณฑ์ขน ...ว่างการแปรรูป ช่วย
ป้องกันการเบ ...ctin

กรดแ ...ยเปลี่ยนให้เป็นผลึก
ของ calcium ...สำหรับวิธีอื่นๆ นั้น
อาจจะโดยหม่ ...*delbrueckii* หรือ
Lactobacillus ...ด้วยตัวทำละลายได้
หรืออาจเตรีย

กรดแ ...ป้องกัน การเสื่อม
ในอาหารหมั ...งคน สัตว์ พืช และ

จุลินทรีย์ได้ตามธรรมชาติ กรดแลกติกถูกตรวจพบเป็นครั้งแรกในนมเปรี้ยว โดยนักเคมีชาวสวีเดน เมื่อปี ค.ศ 1780 จึงทำให้ทราบว่ากรดแลกติกเป็นผลที่เกิดขึ้นจากการหมักจุลินทรีย์ จากการสำรวจการผลิตกรดแลกติกทั่วโลกพบว่ามีการผลิตอยู่ประมาณ 50,000 ตันต่อปี โดยสองในสามส่วนที่ผลิตได้ ได้มาจากกระบวนการหมัก ส่วนที่เหลือผลิตได้จากกระบวนการทางเคมี กรดแลกติกที่ผลิตได้ส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 85 ใช้กันอยู่ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยกรดแลกติกทำหน้าที่เป็นตัวปรับสภาพความเป็นกรดในอาหาร เพื่อให้เกิดรสชาติของความเปรี้ยวที่พึงประสงค์ของอาหารและเครื่องดื่ม ตลอดจนการใช้ในอาหารแปรรูปและผลิตภัณฑ์ขนม กรดแลกติกยังสามารถใช้เป็นสารกันบูดเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้กรดแลกติกในเวชภัณฑ์ อุตสาหกรรมสิ่งทอ เป็นส่วนผสมของแลกเกอร์ และสารโพลีเมอร์ได้อีกด้วย กรดแลคติกบริสุทธิ์สามารถเป็นวัตถุดิบในการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพ ที่เรียกว่า พอลิแลกเตต เพื่อใช้ทดแทนพลาสติกที่ได้จากอุตสาหกรรมปิโตรเคมี

2.1.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกรดแลกติก

คุณสมบัติทางกายภาพ

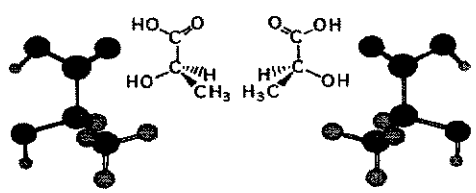
ตารางที่2.1 แสดงคุณสมบัติทางกายภาพของกรดแลกติก

คุณสมบัติทา	
น้ำหนักโมเล	
จุดหลอมเหล	
จุดเดือด	
ค่าคงที่ของกา	
ค่าความร้อนฯ	
ค่าความร้อนจ	

ที่มา : Niju แ

ธนาคารโดยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

acid หรือ 2-hydroxypropi



L (+) Lactic D (-) Lactic

รูปที่ 2.1 โครงสร้างของ L(+) Lactic acid และ D(-) Lactic acid

ที่มา Nijju และคณะ 2004

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนรูปของ L(+) Lactic acid และ D(-) Lactic acid เกิดจากการหมุนของเอทิลีนออกไซด์บริจด์ (ethylene oxide bridge) ระหว่างคาร์บอนอะตอมที่หนึ่งและอะตอมที่สองโดยเกิด tautomeric shift ของไฮดรอกซิลกรุ๊ป (hydroxyl group) บนคาร์บอนอะตอมที่สองไปเป็นคาร์บอนนิลกรุ๊ป (carbonyl group) ของคาร์บอกซิล (carboxyl) กรดแลคติกที่มีความบริสุทธิ์สูงจะไม่มีสี กรดแลกติกสามารถละลายน้ำ เอทานอล อะซีโตน อีเทอร์ และไม่สามารถละลายในคลอโรฟอร์มปิโตรเลียมอีเทอร์ และคาร์บอนซัลไฟด์ (Narayanan และคณะ,2004)

กรดแลกติกมารวมกันหลายๆ โมเลกุล ทำให้เกิดกรดพอลิแลกติก ดังรูป

รูปที่ 2.2 กรด

ที่มา : http://v

ide (3,6-dimethylp-

dioxane-2,5-

งกรดแลกติก ดังรูป

ที่ 3

รูปที่ 2.3 ไซร

ที่มา : http://www.cem.msu.edu/~smithmr/Lactide.htm

กรดแลกติกที่สิ่งมีชีวิตได้จะมีปริมาณความเข้มข้นต่ำ โดยกรดแลกติกความเข้มข้นสูงเป็นอันตรายต่อร่างกายทั้งภายนอกและภายใน เมื่อกรดสัมผัสกับผิวหนังจะเหมือนถูกไฟลวก เมื่อกรดถูกดวงตาสามารถทำให้ตาบอดได้ ในกรณีที่กรดถูกดวงตาหรือผิวหนังควรล้างออกด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 กระบวนการผลิตกรดแลกติก

การผลิตกรดแลกติกสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือ ทางเคมีและชีวภาพ

2.2.1 การผลิตกรดแลกติกด้วยวิธีทางเคมี แบ่งได้ 4 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1 นำ hydrogen cyanide ทำปฏิกิริยากับ acetaldehyde ได้ lactonitrile ทำปฏิกิริยาที่ความดันบรรยากาศ ดังสมการที่ 1

$$CH_3CHO + HCN \xrightarrow{\text{catalyst}} CH_3CHOHCN \quad (1)$$

Ac

ขั้นต ได้ กรดแลกติกและ
เกลือแอมโม

CH_3Cl $H_4)_2SO_4$ (2)

Lact ium salt

ขั้นต วร์ คือเมทิลแลคเตต
นำเมทิลแลค ะสารปนเปื้อนอื่นๆ
จะถูกกำจัดอ

CHOHC (3)

lacti

$$CH_3CHOHCOOCH_3 + H_2O \longrightarrow CH_3CHOHCOOH + CH_3OH \quad (4)$$

methyl lactate lactic acid methanol

2.2.2 การผลิตกรดแลคติกด้วยวิธีทางชีวภาพ

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติกมี 2 ชนิด คือ โฮโมแลกติกแบคทีเรียและเฮเทอโรแลกติกแบคทีเรีย ซึ่งขั้นตอนในการผลิตแลกติกของแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้แสดงดังสมการที่ 5 และ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3CHOCOOH$ (5)

Glucose lactic acid

สมการที่ 5 การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลกติกของโฮโมแลกติกแบคทีเรีย

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3CHOHCOOH + C_2H_5OH + CO_2$ (6)

Glucose lactic acid ethanol carbon dioxide

สมการที่ 6 การเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลกติกของเฮเทอโรแลกติกแบคทีเรีย

นอก ...ย์ซึ่งสามารถหมักได้
แบบกะ กึ่งก ...าตุ พีเอช อุณหภูมิ
อากาศ (Ande
Roul ...*obacillus casei* และ
Lactobacillus ...*asei* ให้ปริมาณกรด
แลกติกสูงถึง ...ในเวลา 24 ชั่วโมง
และเมื่อเลี้ยง...
Paul ...ถูกมาใช้แทนแหล่ง
ไนโตรเจนสัง ...ย์สกัด และสารสกัด
จากมอลต์ลง ...เบเทียบกับยีสต์สกัด
โดยเชื้อ *Lac* ...ยีสต์สกัดแต่มีข้อเสีย
คือเมื่อสิ้นสุด ...สูงในการที่ทำให้ผล
ผลิตมีความบ
Yun ...ได้แก่ กลูโคส ฟรุก
โตส มอลโตส กาแลกโตส กลีเซอรอล ไซโลส เวย์ และแป้ง โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY 1 พบว่า ปริมาณกรดแลกติกจะสูงเมื่อใช้กลูโคส ฟรุกโตส และมอลโตสเป็นสารตั้งต้น

Bulut และคณะ (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากสารตั้งต้นชนิดต่างๆ ได้แก่ ซูโครส กลูโคส โมลาส ฝักถั่วและรำสาลี โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงขึ้นเมื่อใช้กลูโคสเป็นสารตั้งต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wee และคณะ (2004) ได้นำโมลาสซึ่งมีซูโครสเป็นองค์ประกอบมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาเป็นสารตั้งต้นนำการผลิตกรดแลกติก *Enterococcus faecalis* พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตกรดแลกติกได้สูงถึง 95.7 กรัมต่อลิตร หรือร้อยละ 94.9

Huang และคณะ (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดสามารถผลิตกรดแลกติกในปริมาณสูงประมาณ 0.85-0.92 กรัมต่อกรัมสารตั้งต้น

Oh และคณะ (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูก ได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลีและข้าวโพด โดยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RKY1 พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้จะสูงเท่าๆ กัน

Wee lot-scale) โดยเชื้อ
Lactobacillus ากติกที่ผลิตได้จะให้
ปริมาณสูงเท่

2.3 การนำก

มีการ กสัชกรรม และ
อุตสาหกรรม อร์ไปใช้ในการผลิต
ผลิตภัณฑ์ที่ส การหมักทางชีวภาพ
หรือการสังเค นั้น ถูกนำมาเป็นตัว
ตัดสินใจในก มและปีโตรเลียมใน
ธรรมชาติที่มี สิทธิภาพออกมาและ
ใช้วัตถุดิบที่ร ร่วมกับกระบวนการ
หมักและใช้วั ้หลากหลายรูปแบบ
ต่อไป ดังรูปที่ 4

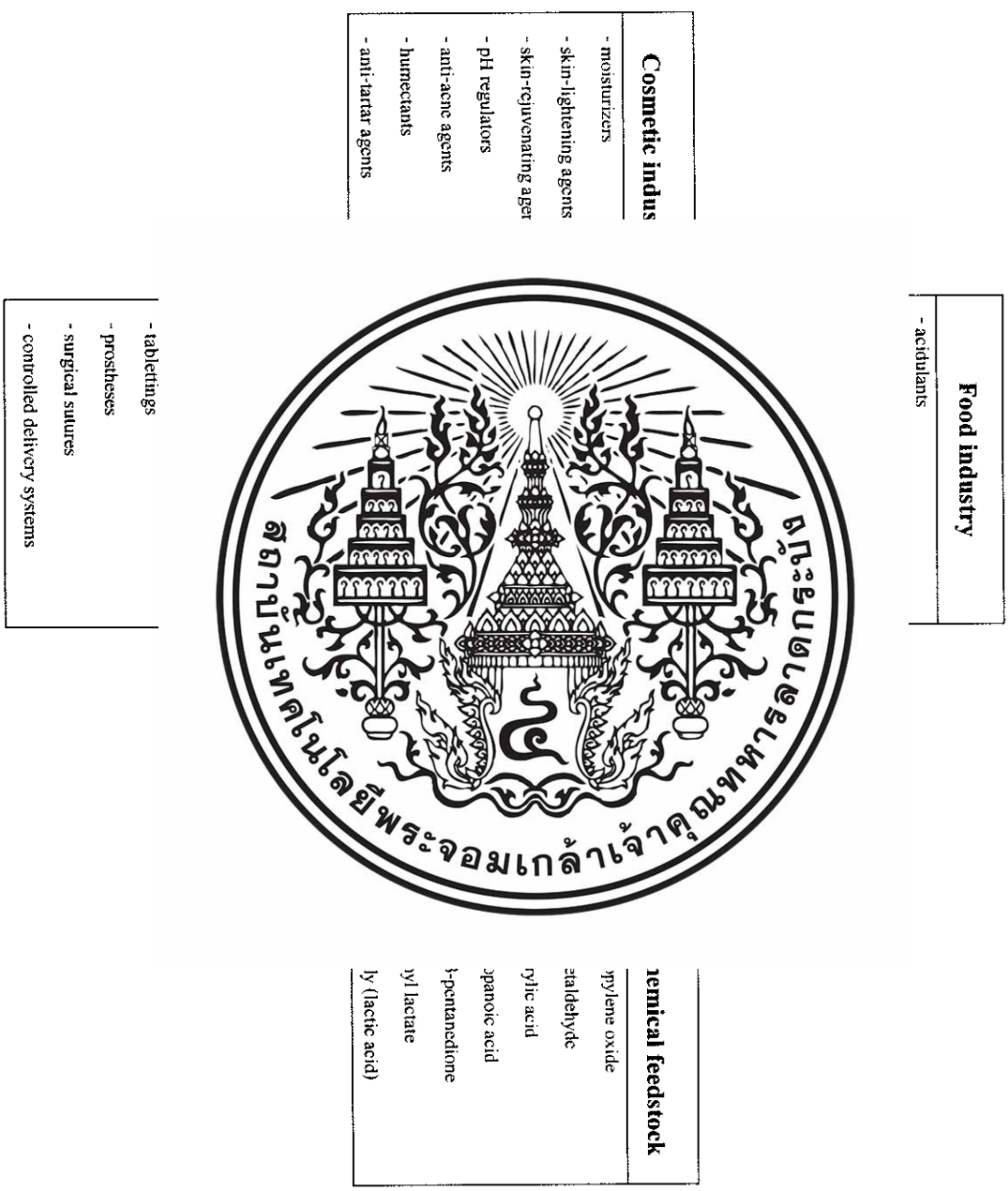
ธนานุเคราะห์โดยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตกรดแลกติก

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติก เรียกว่า แลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria ; LAB) ความหมายของ แลกติกแอซิดแบคทีเรียหมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีความสามารถในการหมักนมให้เกิดตะกอนได้ นอกจากนี้ยังรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มโคลิฟอร์มด้วย ต่อมาได้พบว่าแบคที่เรียแบคทีเรียแลกติกมีเพียงแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น จึงได้มีการแยกกลุ่มแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มโคลิฟอร์มออก จากนั้นได้ให้ความหมายของแบคทีเรียแลคติกว่า ต้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะสำคัญ คือ ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรดแลกติก มีรูปร่างเป็นทรงกลม และแท่ง



รูปที่ 2.4 โดยแกรมการใช้กรดแลคติกทางการค้าและการนำไปประยุกต์ในรูปแบบต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตกรดแลกติก

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติก เรียกว่า แลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic Acid Bacteria ; LAB) ความหมายของ แลกติกแอซิดแบคทีเรียหมายถึง กลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกและมีความสามารถในการหมักนมให้เกิดตะกอนได้ นอกจากนี้ยังรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่มโคลิฟอร์มด้วย ต่อมาได้พบว่าแบคที่เรียแบคทีเรียแลกติกมีเพียงแบคทีเรียแกรมบวกเท่านั้น จึงได้มีการแยกกลุ่มแบคทีเรียกลุ่มโคลิฟอร์มออก จากนั้นได้ให้ความหมายของแบคทีเรียแลคติกว่า ต้องเป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะสำคัญ คือ ไม่มีการเคลื่อนที่ ไม่มีการสร้างสปอร์มีความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรดแลกติก มีรปร่างเป็นทรงกลม และแท่ง

2.4.

แบค ไม่สร้างสปอร์ ไม่
เคลื่อนที่ ไม่ สุดท้าย ในการหมัก
คาร์โบไฮเดร ะบวนการ substrate
– level pho วามต้องการอาหารที่
ซับซ้อน เช่น ณที่มีออกซิเจน ไม่มี
ออกซิเจน แล เซลเซียส อุณหภูมิที่
เหมาะสมอยู่ 6.20 แต่โดยทั่วไป
เจริญได้ที่พีเ มกลาง หรือเป็นด่าง
(Salminen แ

2.4.

แบ ัณฑ์ข้าว ผลิตภัณฑ์
จากเนื้อและ ทางเดินอาหาร และ
อวัยวะสืบพันธุ์ (Salminen และ Wright, 1993)

2.4.3 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ต้องการอาหารพิเศษ หรือ เฉพาะในการเจริญเติบโต (Fastidious microorganism) มีความต้องการสารอาหารต่างๆ ที่สำคัญได้แก่

2.4.3.1 คาร์โบไฮเดรต (Salminen และ Wright, 1993)

แบคทีเรียแลคติกสามารถใช้น้ำตาลได้หลายประเภทจาก monosaccharide ประเภท pentose เช่น arabinose, ribose และ xylose เป็นต้น และ hexose เช่น fructose และ mannose disaccharide เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

maltose trisaccharide เช่น maltotriose polymer เช่น แป้งนอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตพวก *oligosaccharides* เช่น *raffinose* และ *fructooligosaccharide* เป็นต้น ซึ่งในระบบทางเดินอาหารไม่มีเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตชนิดนี้ได้ในกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตจะได้ผลผลิต 2 แบบ คือ homofermentative ได้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว และ heterofermentative ได้กรดแลคติก กรดอะซิติก หรือ เอทานอล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

2.4.3.2 ไนโตรเจน (Salminen และ Wright, 1993)

แบคทีเรียแลคติกสามารถเติบโตได้ดีในอาหารที่มีสารอาหารมากหลายสายพันธุ์ต้องการ *กรดอะมิโนห* [illegible] เที่แบคทีเรียแลคติกต้องการ เช่น

), riboflavin (B2), pyridoxine ([illegible] ที่ *Bifidobacterium infanntis* สา [illegible] น *B. brevis* และ *B. lingum* สามา [illegible] *B. adolescentis* ไม่สามารถสังเค [illegible] คติกบางสายพันธุ์ยังต้องการ nico [illegible]

2.4.4 [illegible] **เอาหาร**

มีปัจ [illegible] าร สิ่งที่ยับยั้งการเจริญของจุลิน [illegible] งจะสัมพันธ์กับพี เอช และคว [illegible] ด เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) [illegible] salt) ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังต้องอยู่รอดในที่มีความตึงผิวต่ำ และกลไกอีกอันหนึ่งซึ่งควบคุมจุลินทรีย์ในลำไส้คือภูมิต้านทานของสัตว์ Gilliland (1979) ได้รายงานถึงการทนกรดในกระเพาะอาหารของ *Lactobacillus* ชนิดต่าง ๆ คือ *L. casei* ทนกรดได้ดีกว่าชนิดอื่น ๆ คืออยู่รอดอย่างสมบูรณ์ใน 3 ชั่วโมงที่อยู่ในสารละลาย gastric juice สังเคราะห์ซึ่งมีพีเอช 3 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *L. acidophilus* และ *L. plantarum* สามารถทนกรดได้ดีเช่นกัน นอกจากนี้ Shirota (1962) ได้รายงานว่า *L. acidophilus* และ *L. casei* สามารถทนกรดที่ระดับพีเอช 4.0 ได้นานถึง 21 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 การสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นของแบคทีเรียแลคติก

2.4.5.1 กรดแลคติก

แบคทีเรียแลคติกสามารถเปลี่ยนน้ำตาลในอาหารให้เป็นกรดแลคติก ทำให้พีเอชของอาหารลดลงมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ทำให้อาหารเน่าเสีย นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในทางเภสัชกรรม และอุตสาหกรรมอื่น ๆ อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Torriani และคณะ *(1997)* ซึ่งมีการทดสอบกรดแลคติกที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในผักสลัด พบว่าถ้าเติมกรดแลคติกร้อยละ 1 ลงไปจะมีผลในการทำลายแบคทีเรียเกือบทุกกลุ่มที่ใช้ทดสอบ แต่ยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดและ faecal coliform ได้ [illegible] รเจริญของจุลินทรีย์ประจำถิ่นใน[illegible]

[illegible] ม ในระหว่างการเจริญเติบโตข[illegible] *Lactobacillus* ไม่มีเอนไซม์ cat[illegible] กิริยากับไทโอไซยาเนตมี lactop[illegible] หาร Gilliland และ Speck (1989)[illegible] ารเน่าเสียได้

[illegible] ค้รวดเร็ว ผลิตจากแบคทีเรีย เช่[illegible] *um Pediococcus acidilactici* แ[illegible]

ภาควิชาเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเบนพษ แบคทร เอซนทผลตจาก *Lactobacillus* ทเรยกวา nisin มการนาไปใช้ในการถนอมอาหารมากที่สุด จากการรายงานที่ผ่านมาเกี่ยวกับการสร้างแบคทีริโอซิน ได้แก่ *L. acidophilus* มักมีการสร้าง acidophilin และ lactocidin ซึ่งเป็นแบคทีริโอซินยับยั้ง *S. aureus* แบคทีเรียแกรมบวก enteropathogen และแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ (Wood และ Hodge, 1985) *L. salivarius* subsp. *salicinius* T140 สร้างแบคทีริโอซินคือ salivacin 140 ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Staphylococcus aureus, Yersinia enterocolitica* และ *Listeria monocytogenes* (Arihara และคณะ, 1998) *L. salivarius* subsp. *salivarius* CRL 1328 สร้างแบคทีริโอซินซึ่งสามารถทนต่อความร้อนและสามารถฆ่าเชื้อก่อโรคในระบบสืบพันธุ์ เช่น *Neisseria gonorrhoeae* (Ocana, 1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5.4 ไดอะซิทิล(Diacetyl)

ไดอะซิทิลเป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก เป็นสารให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมัก และมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วย ไดอะซิทิลที่มีความเข้มข้น 200 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรีย ส่วนที่ความเข้มข้น 300 μg/ml สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช่แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ส่วนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นสูงกว่า 350 μg/ml

รูปที่

(http

มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

ละลายได้ดีที่

เกรมบวก แกรมลบ

ยีสต์ รา โปร

Staphylococcus sp.,

Listeria sp. เ

2.4.6 สารต้านเชื้อราจาก lactic acid bacteria (LAB)

เพื่อใช้เป็นสารกันเสียชีวภาพ (biopreservative)

2.4.6.1 กรดอินทรีย์ (Organic acid)

ในกระบวนการหมักของ LAB นั้นจะมี 2 แบบคือ homofermentative และ heterofermentative โดยกรดแลคติคเป็นสารหลักที่ได้จากกระบวนการหมักแบบ homofermentative โดยกรดแลคติคนั้นจะมีผลทำให้พีเอชของอาหารลดลง ซึ่งก็มีผลให้เชื้อจุลินทรีย์อื่นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ เพราะ H^+ อิออนจะซึมผ่าน cell membrane เข้าสู่ภายในเซลล์ของเชื้อราทำให้ cytoplasm มีสภาพเป็นกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูงซึ่งส่งผลให้ electrochemical proton gradient ภายในเซลล์จุลินทรีย์เสียไปด้วย

สำหรับกระบวนการหมักแบบ hetero-fermentative ของ LAB จะได้ acetic acid เป็นสารหลัก และผลิต propionic acid ในปริมาณเล็กน้อย แต่กรดทั้งสองชนิดจะมีค่า pKa ที่สูงมากกว่า lactic acid โดยกลไกการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก็จะเหมือนกับของ lactic acid คือจะมีผลต่อ electrochemical proton gradient และไปยับยั้ง amino acid uptake ภายในเซลล์ของเชื้อรา โดยฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราจะให้ผลดีที่พีเอช ต่ำกว่า 4.5 นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ lactic acid ร่วมกับ acetic acid และ propionic acid จะสามารถยับยั้ง การเจริญของยีสต์ได้ดีกว่าการใช้กรดเพียงชนิดเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ในการยับยั้งเชื้อรา

luct อื่นที่มีฤทธิ์ต้าน

เชื้อราได้ ค

yme flavoprotein

oxidase ทำ

e นี้ก็มีฤทธิ์ในการ

ยับยั้งการเจริ

ะจะไปทำลายโครง

สร้างโมเลกุล

นสารที่ให้กลิ่นที่ได้

จากการทำน

lacetyl สำหรับเป็น

สารต้านเชื้อร

งต่อรสและกลิ่นของ

ผลิตภัณฑ์

ได้ ซึ่งจากการศึกษา

ฤทธิ์ในการยั

enzyme ซึ่งต่อมา

พบว่าสารที่มี

โดยจากการศึกษา

ฤทธิ์ในการยั

ฤทธิ์จะลดลงเมื่อใส่

trypsin หรื

spp. ในหญ้าหมัก (silage) พบว่า มีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา และฤทธิ์ยับยั้งการสร้าง aflatoxin ต่อ *Aspergillus flavus* โดยสารที่มีฤทธิ์นี้เป็นสารกลุ่ม peptide (< 1 kDa) มีฤทธิ์ต้านเชื้อได้กว้าง ทนความร้อนและออกฤทธิ์ได้ดีที่พีเอช 3-6 แต่จะถูกทำลายได้ด้วย proteinase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.6.3 สารรูทีริน (Reuterin)

Reuterin เป็นสารต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์กว้าง (broad-spectrum) พบครั้งแรกจากเชื้อ *Lactobacillus reuteri* โดย reuterin เป็นสารที่ได้จากการ oxidize glycerol โดย LAB ในสภาพ anaerobic โดยทั่วไป LAB จะไม่มี oxidative pathway สำหรับ glycerol หรือ glycerol ไม่สามารถถูกใช้เป็น c-source เดี่ยวได้ ดังนั้นวิธีการเดียวที่จะใช้ glycerol ของ LAB ได้ คือ การทำให้ LAB เข้าสู่ intermediate state ของ 3-hydroxypropionaldehyde (reuterin, 3-HPD) พบว่า reuterin มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น แบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ รา โดยพบฤทธิ์ต้านเชื้อต่อ *Candida, Torulopsis, Saccharomyces, Aspergillus* และ *Fusarium* *llus coryniformsis* จะช่วยเพิ่มฤ

เหลว พบว่ LAB 14 ในอาหาร ฤทธิ์ต้านเชื้อ ของเชื้อราได้ โดย ที่ยาวกว่านี้จ 8) acid และสาย acid และ บฤทธิ์ของ fatty fatty acid ข้น 10 mM ของ นี้ได้ นอกจ ารเจริญของเชื้อยีสต์ inhibitory โดยค่า minimum 10-100 µg/m ละยีสต์จะอยู่ในช่วง ัน

ลวพบว่าเชื้อ LAB สามารถผลิต phenyllactic acid และ 4-hydroxy-phenyllactic acid ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อราเส้นใยหลายสายพันธุ์ โดย phenyllactic acid มีค่า MIC อยู่ในช่วง mg/ml ได้มีการนำเชื้อ L. plantarum มาเป็น starter สำหรับการผลิตขนมปังร่วมกับ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าช่วยยืดอายุ shelf life และป้องกันเชื้อราบนขนมปังได้ สำหรับการทดลองในอาหารสัตว์ โดยนำเชื้อ L. plantarum เลี้ยงในหญ้าหมัก พบว่าจะช่วยเพิ่ม aerobic stability และลดปริมาณยีสต์ และเชื้อราได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่า phenyllactic acid จะช่วยเสริมการออกฤทธิ์ของสารต้านเชื้อราอื่นๆ ที่ผลิตโดย LAB ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 สารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ *Lactobacillus* สายพันธุ์ต่างๆ (Robert และคณะ, 1992)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	สารยับยั้งที่ผลิต
L. acidophilus	acidolin
	acidophilin
	lactacin B
L. bulgaricus	bulgaricin
L.helveticus	lactocin 27

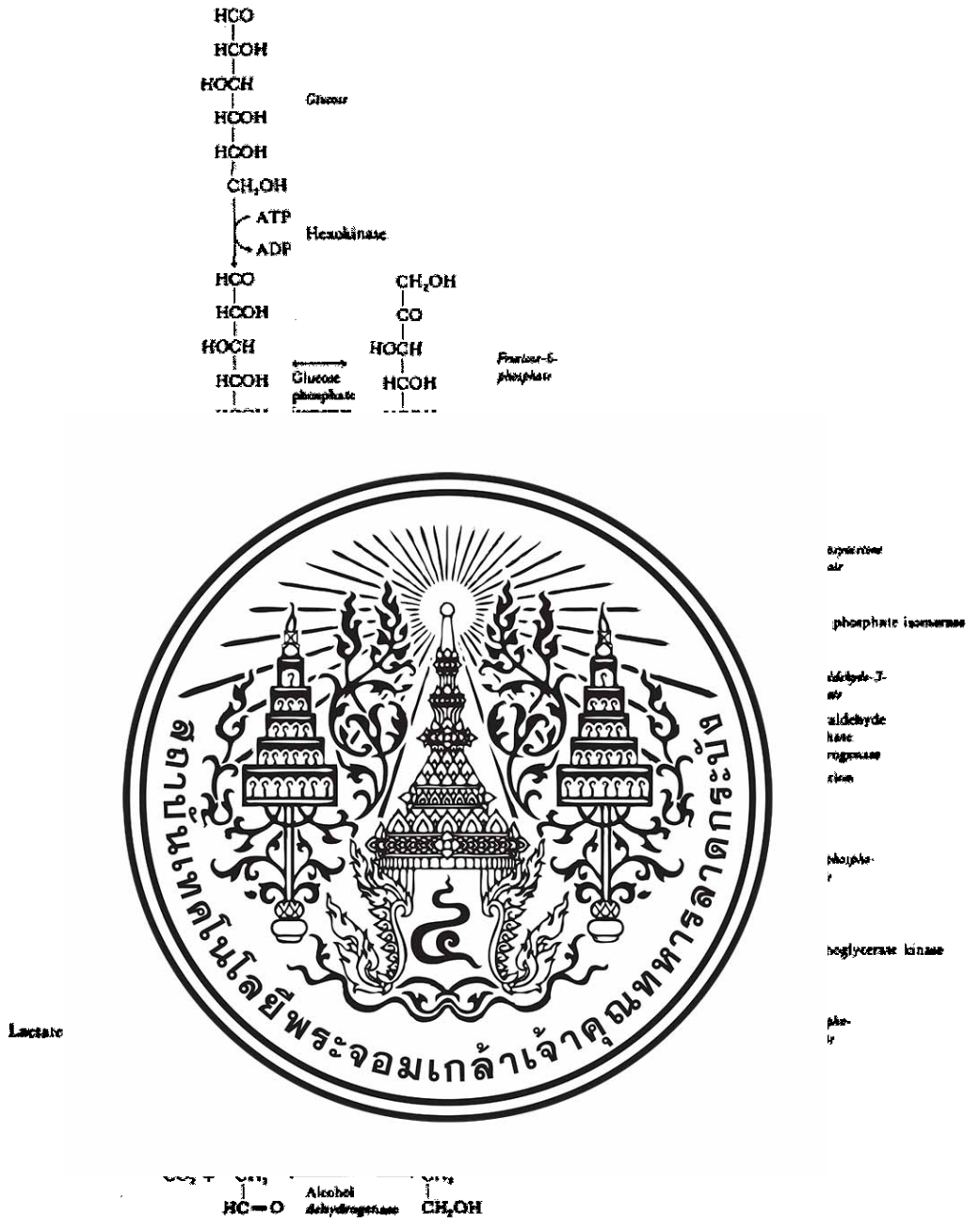
Lact ะอวัยวะสืบพันธุ์เพศ
หญิง เป็น Fa ำในอาหารเลี้ยงเชื้อ
ในบริเวณที่มี ำเป็นสาเหตุของโรค
ติดเชื้อในมนุ

1. กi

as (EMP) จุลิ
นทรีย์ผลิตเอนไซม์ Fructose-1, 6-bisphosphate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketo- lase ดังนั้นจึง
สามารถหมักน้ำตาลเพนโทสและกลูโคเนตไม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



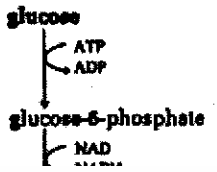
รูปที่ 2.6 วิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม Obligately homofermentative lactobacilli (www.brighton73.freeseve.co.uk)

72608

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กลุ่ม Facultatively heterofermentative lactobacilli

หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแลกติกโดยวิธี (EMP) จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ aldolase และ phosphoketolase ดังนั้นจึงสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตส



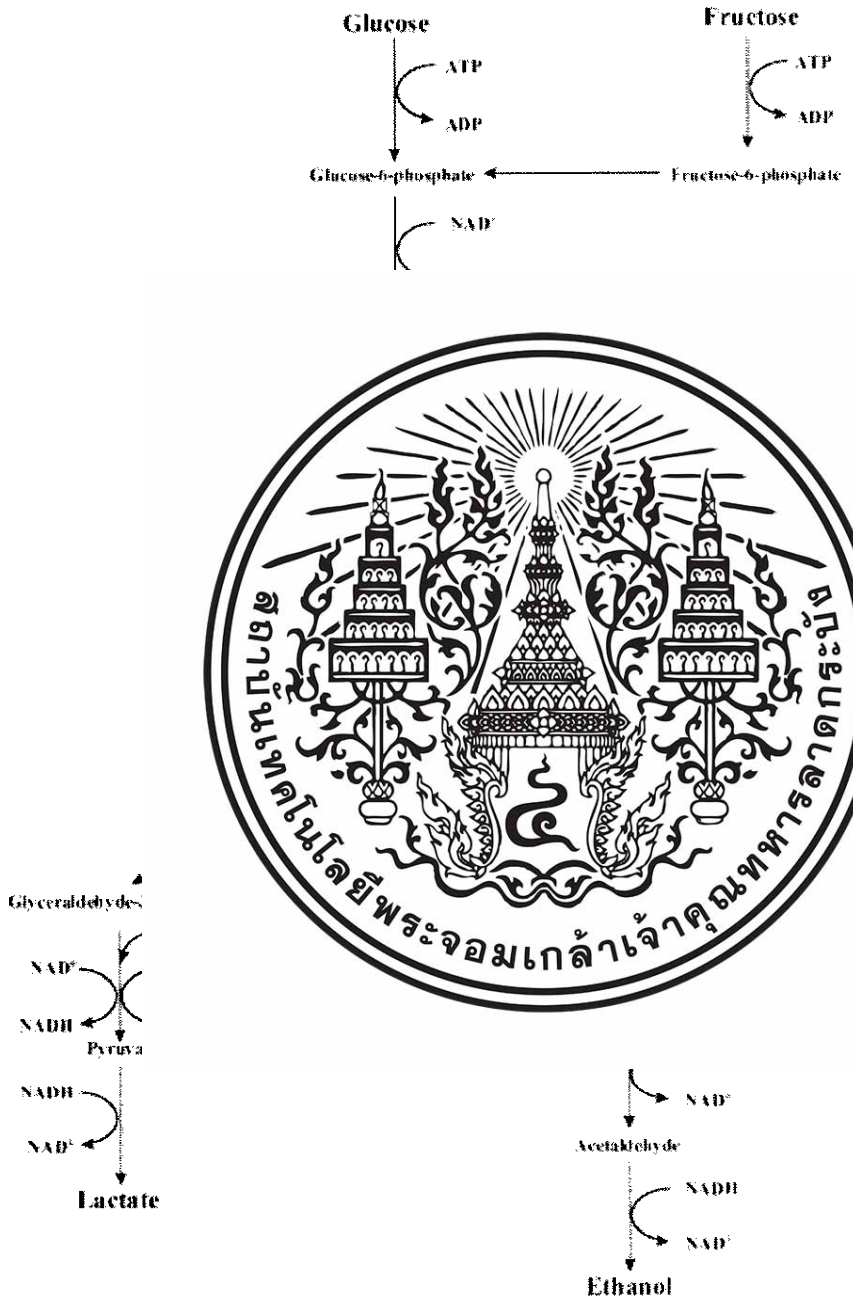
ธนบุรีราชภัฏ พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

รูปที่ 2.7 วิถี Embden-Meyernof-Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม heterofermentative lactobacilli

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กลุ่ม Obligately heterofermentative lactobacilli

หมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตส ผ่านทางวิถี ฟอสโฟกลูโคเนตเป็นแลคเตต เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์



รูปที่ 2.8 วิถีฟอสโฟกลูโคเนต

(www.brighton73.freeseve.co.uk)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลคโตบาซิลลัส *(Lactobacillus sp.)* เป็นแลกติกแคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด มีความหลากหลายของฟีโนไทป์ คุณสมบัติทางชีวเคมีและสรีระ เนื่องจากความแตกต่างของโมเลกลุเปอร์เซ็นต์ G +C ภายในสกุลสูง ระหว่างร้อยละ 32 – 53 (Bd,Tm) สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 2 – 53 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีและเหมาะสมที่ 30- 40 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริยอยู่ในช่วง 5.5 – 6.2 หรืออาจเจริญได้ที่พีเอช 5.0 หรือต่ำกว่านี้ได้ (Sneath และคณะ , 1984)

ตารางที่ 2.3 ลักษณะและความแตกต่างของ *Lactobacillus sp.*

ลัก	**Obligately**	**Facultatively**	**Obligately fermentative**
การหมักน้ำต			+
การสร้างก๊าซ กลูโคส			+
การสร้างก๊าซ กลูโคเนส			+
เอนไซม์ FDP			-
เอนไซม์ Phos			+
			vis
			hneri
	Lb. helveticus	*Lb. plantarum*	*Lb. fermentum*
	Lb. salivarius	*Lb. sakei*	*Lb. reutri*

ที่มา : Salminen และคณะ , 1998

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ในกลุ่มแลคโตบาซิลลัสที่น่าสนใจคือ *Lactobacillus casei*

Scientific classification

Kingdom:	Bacteria
Division:	Firmicutes
Class:	Bacilli
Order:	Lactobacillales
Family:	Lactobacillaceae
Genus:	*Lactobacillus*

จุลิน ...บางครั้งจะเป็น rod
เป็นแบคทีเรี ...เสปอร์ เซลล์มีขนาด
ประมาณ 0. ...วงการอุตสาหกรรม
เหมือนแบคท์ ...ม่สามารถสังเคราะห์
porphyrins ...tive คือสามารถผลิต
กรดแลคติคจ ...าตาลเพนโตส ในวิถี
ชีวเคมี 6-phc ...ยส แต่จะไม่เจริญถ้า
อุณหภูมิเกิน ...alcium pantothenate
และไนอะซิ

L.ca ...*าพแวดล้อมต่างๆได้*
ดี และสามา ...มกันจนเกิดการหมัก
ชื้น และกระ ...*asei ถูกนำมาใช้เป็น*
โปรไบโอติค ...ริ้ยว เนยแข็งหรือชีส
ซึ่งจะทำให้อาหารมีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์และถูกปากผู้บริโภค

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่สำคัญในท้องตลาดเช่น ยาคูลท์ (Yakult, *Yakuruto*') หรือโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ได้จากการหมักของนมที่ผ่านการแยกเอาไขมันออก และมีการเติมแต่งรสหวานเพิ่มเข้าไปด้วยน้ำตาลหรือสารให้รสหวานโดยใช้แบคทีเรียแลคโตบาซิลลัสสายพันธุ์พิเศษที่ชื่อว่า *Lactobacillus casei Shirota.* เนื่องจากสายพันธุ์นี้เป็นสายพันธุ์ตามธรรมชาติทั่วไป ค้นพบมาจากในระบบย่อยอาหารของคน 1 ขวด บริโภคมีจุลินทรีย์ดังกล่าวทีมีชีวิตถึง 8,000 ล้านเซลล์ ดังนั้นยาคูลท์มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากโดยเฉพาะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเรื่องของลำไส้และระบบขับถ่าย ของผู้บริโภคเป็นอย่างมากและยังได้รับกลิ่นของกรดซิตริคที่เป็นธรรมชาติอีกด้วย

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติกของ Lactic Acid Bacteria (LAB)

2.5.1 แหล่งคาร์บอน

Arasaratnam และคณะ (1996) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าเมื่อนำเวย์มาเติมกลูโคสลงไป 20 กรัมต่อลิตรร่วมกับยีสสกัดปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร กรดแลกติกที่ผลิตได้จะเพิ่มขึ้น

Yun กรดแลกติก จากเชื้อ
Enterococcu ส น้ำตาลมอลโตส
น้ำตาลกาแล ฟรุกโตสและน้ำตาล
มอลโตส จุลิ ส่วนน้ำตาลกาแลก
โตส น้ำตาล .26 2.24 1.68 1.83
และ 1.19 ตา

Yun ิดต่างๆ โดยใช้เชื้อ
Enterococcu ประกอบด้วยน้ำตาล
กลูโคส น้ำต ะอยู่ระหว่าง 5.2-6.0
กรัมต่อลิตรต่ ผลิตกรดแลกติกจาก
กลูโคส ฟรุก รดแลกติกที่สูง

Bule เตาลซูโครส น้ำตาล
กลูโคส โม กติกในปริมาณที่สูง
เช่นเดียวกับ

Wee และคณะ (2004) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากโมลาสในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้เชื้อ *Enterococcus faecalis* ด้วยวิธีการหมักแบบกะ พบว่าที่ความเป็นกรดด่าง 7.0 ได้ปริมาณกรดแลกติก 95.7 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 94.9

Huang และคณะ (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแป้งมันฝรั่ง โดยเชื้อ *Rhizopus oryzae* และ *Rhizopus arrhizus* พบว่า ความเข้มข้นของแป้งที่ 20 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณกรดแลกติก 0.85-0.92 กรัมต่อสารตั้งต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oh และคณะ (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูก เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวโพด โดยนำมาย่อยกับเอนไซม์ และจึงนำผลิตกรดแลกติก ด้วยเชื้อ *Enterococcus faecalis* RYK 1 พบว่า เมื่อใช้ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลีเป็นสารตั้งต้นจะให้ปริอมาณกรดแลกติกมากว่า กรัมต่อลิจร ต่อชั่วโมง เมื่ออาหารประกอบด้วยแป้งสาลีที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ 200 กรัมต่อลิตร แป้งข้าวโพด 15 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 1.5 กรัมต่อลิตร ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตได้จะสูงถึง 5.36 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ปริมาณเซลลจะสูงถึง 14.08กรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับการใช้แป้งสาลีเพียงอย่างเดียว

Kadam และคณะ (2006) ศึกษาแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโคส ซูโครส แลกโตส กาแลกโตส ไซโลส มอลโตส ที่สามารถให้ปริมาณกรดที่สูง โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่า กลูโคสเป็นแ

Ohk ...งจากโรงอาหารโดย
เชื้อ *Lactoba* ...กรัมสารตั้งต้น

Taka ...าข้าวซึ่งใช้เป็นแหล่ง
คาร์บอนโดย ...โลกรัมต่อลิตร

Wee ...ริมาณต่างๆได้แก่ 50
75 100 และ ...ติกสูงสุด

2.5.

Aras ...ได้แก่ ยีสต์สกัด เป
ปโตน ถั่วเ ...ในการผลิตกรดแลก
ติกโดยเชื้อ ...การผลิตกรดแลกติก
ได้แก่ ยีสต์ส

Kol ...และปริมาณกรดแลก
ติกเพิ่มขึ้นแต่

Fitzpatrick และคณะ (2001) ศึกษาอิทธิพลของการเติม whey protein hydrolase (WPH) ซึ่งเห็น แหล่งไนโตรเจนลงไปใน whey permeate สำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus helveticus* พบว่าสามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลกโตสในเวย์ให้เป็นกรดแลกติกได้ในปริมาณสูงภายในระยะเวลา 30-40 ชั่วโมง

Nancib และคณะ (2001) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ยีสต์สกัด เปปโตน ยู เรีย corn steep และ $(NH_4)_2SO_4$ ที่เติมลงในน้ำอินผลัม โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่มีประสิทธิภาพสามารถผลิตกรดแลกติกได้ดีคือ ยีสต์สกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Altaf และคณะ (2005) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ถั่วแดง ถั่วดำ ถั่วเบงกอล ถั่วเขียว ถั่วเหลือง และbaker'syeast ที่เติมลงในแป้งซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus amylophilus* GV6 พบว่าปริมาณกรดแลกติกที่ได้จะสูงถึงร้อยละ 92

Nancib และคณะ (2005) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ยีสต์สกัด แอมโมเนียมซัลเฟต ทริปทิซอย ยูเรีย เปปโตน เคซีน ที่ใส่ลงในน้ำอินทผลัม พบว่าปริมาณกรดแลกติกจะสูงถึง 24.8 กรัมต่อลิตรเมื่อใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน

Kadam และคณะ (2006) ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจนชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ยีสต์สกัด corn steep liquor ยูเรีย แอมโมเนียมซัลเฟต ที่เติมลงในอาหารสังเคราะห์โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 พบว่าแ ร

2.5.3

Fitzp รดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillu.* แวย์ พบว่าเวลาที่ใช้ในการผลิตก แมงกานีสเวลาที่ใช้ในการผลิตจ

Nam นโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ยีสต์ส ทผลัมพบว่าปริมาณกรดแลกติกจ

Ohk าหารที่เหลือทิ้งจากโรงงานอาหา สลงไปปริมาณกรดแลกติกจะได้

2.5.4

Idris ากวัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสัปปะรด โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ซึ่งในการทดลองได้ศึกษาอุณหภูมิที่ระดับ 27, 30, 37, 40, 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซลเซียส จุลินทรีย์สามารถผลิตกรดแลกติกได้ดีที่สุด

John และคณะ (2006) ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลกติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.5 ความเป็นกรดเป็นด่าง

Wenge Fu และ A.P.Mathew (1999) ศึกษาอิทธิพลของพีเอช สารตั้งต้นและปริมาณออกซิเจนในการผลิตกรดแกลติก จากน้ำตาลแลกโตส โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus plantarum* พบว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมของเชื้อในการผลิตกรดแลกติกอยู่ในช่วง 5-6 และการเลี้ยงแบบ anaerobic จะให้ผลผลิตกรดแลกติกได้สูงกว่าการเลี้ยงแบบ aerobic 2.3 เท่า

Idris และ Suzuna (2006) ศึกษาอิทธิพลของพีเอชที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุเหลือทิ้งของการผลิตน้ำสัปปะรดโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* พบว่าที่พีเอช 6.5 การใช้น้ำตาลจะเร็ว และให้ปริมาณกรดแลกติกที่สูง

John ...ยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ...ติก

2.6 High Pe...

2.6.

เทค... id Chromatography (HPLC) เท... ...ราะห์ที่นิยมกันอย่างมาก เพราะ... ...งของการระเหยหรือความเสถียร...

ก่อน... ...ของนักวิทยาศาสตร์น้อยมาก ต่อ... ...ย เช่น open- column chromatogra... ...เล่านี้ก็ยังไม่เพียงพอต่อการหาปริ... ...ษ 1970 นี้ วิธีการ Pressure li... ...ารลดเวลาในการทำสารประกอบให้บริสุทธิ์ ถูกแยกโดย Column chromatography แต่อัตราการไหลไม่คงที่ซึ่งเป็นข้อโต้เถียงกันว่า หากอัตราการไหลหรือความดันคงที่จะทำให้การแยกสารประกอบได้ผลที่ดีขึ้นหรือไม่ High pressure liquid chromatography ถูกพัฒนาขึ้นมาในกลางทศวรรษที่1970 และถูกพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วพร้อม ๆ กันกับการพัฒนาอุปกรณ์ที่นำมาใช้ทำเป็น Column และมีการเชื่อมต่อกับตัวตรวจวัด (detector) ในปลายทศวรรษที่1970 วิธีการใหม่ๆ เช่น Reverse phase liquid chromatography มีความสามารถที่จะทำการแยกสารประกอบที่มีความคล้ายคลึงมากๆได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ในช่วง ทศวรรษที่ 1980 เทคนิควิธีโครมาโตกราฟฟี่ชนิดของเหลวความดันสูง ได้นำมาใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปเพื่อการแยกสารประกอบเคมี ซึ่งวิธีการนี้ทำให้การแยก การจำแนก การทำให้บริสุทธิ์ และการหาปริมาณของสารประกอบได้ดีกว่าวิธีอื่นที่กล่าวมา มีระบบคอมพิวเตอร์และระบบกลไกอัตโนมัติทำให้เพิ่มความสะดวกต่อการใช้เทคนิควิธีโครมาโตกราฟฟี่ชนิดของเหลวความดันสูงมากขึ้น ชนิดของ Column ก็ดีกว่าColumn ที่ได้ผลิตขึ้นได้แก่ Micro-Column, Affinity Column

ทศวรรษที่ผ่านมา มีการดำเนินงานด้านการพัฒนา Micro-Column และ Column ชนิดพิเศษอื่นๆ กันอย่างกว้างขวาง โดยทั่วไปแล้ว HPLC column สามารถวัดความยาวได้เป็นหลักร้อยในหน่วยมิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตร Micro-Columnหรือ Capillary Column โดยทั่ว ๆไป มีเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 3 -200 ไมโครเมตร (1/1000 มิลลิเมตร) ส่วน Fast HPLC จะใช้ Column ที่สั้นกว่าซึ่งมีความยาว

ของ Columr particles) ที่เล็กกว่า

ในปั รแยกสารประ- กอบ

เคมี และ de องเหลวความดันสูง

เป็นวิธีหนึ่งที่ และ Biochemical

ทางด้านPhar ปัจจุบันนี้ HPLC ได้

ถูกนำมาใช้ท

รูปที่ 2.9 ตัวอย่างเครื่อง HPLC ของ Shimadzu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 ทฤษฎีการปฏิบัติ

1) Stationary phase ใน *HPLC* หมายถึง ของแข็งที่บรรจุอยู่ใน column ซึ่ง mobile phase จะไหลผ่านอย่างต่อเนื่อง สารละลายตัวอย่างที่ถูกฉีดเข้าไปยัง mobile phase ที่ไหลผ่าน injector port สารละลายตัวอย่างจะไหลไปพร้อม mobile phase องค์ประกอบสารละลายที่แพร่ไป จะเกิดปฏิกิริยากับ stationary phase แบบ non- covalent ปฏิกิริยาของ stationary phase และตัวอย่าง ร่วมกับ mobile phase จะทำให้เกิดการแพร่หรือการแยกตัวขององค์ประกอบที่มีอยู่ในตัวอย่าง เช่น ตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ stationary phase มากกว่า ทำปฏิกิริยากับ mobile phase ตัวอย่างนั้นจะหลุดออกมาจาก column ได้ช้ากว่า และมี retention time นานกว่า ตรงกันข้ามกับตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ mobile phase มากกว่า stationary phase ตั time น้อยกว่า

รือ stationary phase อย่างต่อเนื่อง อย่างถูกฉีดเข้าไปยัง mobile phas ม ๆ กันกับ mobile phase องค์ป: ับ column ปฏิกิริยา ทางเคมีของ ตัวขององค์ประกอบ ที่มีอยู่ในตัวอ y phase ตัวอย่างนั้น จะหลุดออกม ปฏิกิริยาที่รุนแรงกับ stationary ph าว่า และมี retention time นานกว่ ย่าง และ stationary phase ซึ่ง ient และ polytypic

โดยทั่วไป in ในตัวอย่างจะถูกละลาย ใน mobile ph นรอบของ valve จะ

J ใน injection port

เป็นการปิด - เปิด เพื่อฉีดตัวอย่างเข้าไปยัง mobile phase ที่ไหลอยู่ ปริมาตรของ loop ประมาณ 10 ไมโครลิตรถึงมากกว่า 500 ไมโครลิตร สำหรับ HPLC ที่มีความทันสมัยการฉีดตัวอย่างเข้าไปจะใช้ระบบกลไกอัตโนมัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) HPLC pumps มีหลายชนิดสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ด้วย HPLC เช่น reciprocating piston pumps ประกอบด้วย motor เล็ก ๆ สำหรับดันลูกสูบให้เคลื่อนที่ไป หน้า -หลัง อย่างรวดเร็ว มีห้อง hydraulic ปริมาตร 35-400 ไมโครลิตร จังหวะที่ลูกสูบถูกดึงมาด้านหลัง the separate column vale จะถูกปิด แล้วลูกสูบจะดูดตัวทำละลายจากที่เก็บ Mobile phase ในจังหวะที่ลูกสูบดันไปข้างหน้า pump จะดันสารตัวทำละลายออกสู่ column จากที่เก็บ ช่วงของอัตราการไหลสามารถเปลี่ยนได้โดยการเปลี่ยนจังหวะปริมาตรของลูกสูบแต่ละรอบ หรือเปลี่ยนจังหวะความถี่ pump ชนิดที่มีสองหรือสามหัว ประกอบด้วยห้องสูบเหมือนกัน ซึ่งทำให้มีมุมต่างกัน 180 หรือ 120 องศา ระบบ pump นี้มีการปั๊มได้อย่างสม่ำเสมอ เพราะว่าเมื่อปั๊มรอบหนึ่งเต็มปั๊มรอบต่อไปจะส่งรอบต่อ

รประกอบตัวอย่างที่
หลุดออกมาเ รงตำแหน่งที่ถัดจาก
stationary p ว้างและความสูงของ
peak โดยทั่ ตรวจสอบก็สามารถ
ควบคุมได้

phase เพราะ แก๊สที่
เกิดขึ้นมีผลต

2.6.

ให้บริสุทธิ์ แยกเป็น
สารเดี่ยว ๆ กอบที่ถูกผลิตขึ้นต่อ
หน่วยเวลา ง ซึ่งข้อมูลเหล่านั้น
ได้แก่ ชนิด

โดยอาศัยประโยชน์
จากคุณสมบั : ที่แตกต่างกัน ซึ่ง
สามารถแยกสารประกอบเคมีหลาย ๆ ชนิดออกจากกันได้ และในการใช้ HPLC ในการแยก
สารประกอบเคมีนี้สิ่งที่เป็นตัวควบคุมหรือมีอิทธิพลต่อการแยกของสารเคมีคือ การเลือกใช้
stationary phase และ mobile phase

3) Purification หมายถึงขบวนการแยกหรือขบวนการสกัดสารประกอบเคมีที่เราต้องการออกจากสารประกอบอื่นหรือสิ่งเจือปนต่าง ๆ สารประกอบแต่ละตัวจะมีลักษณะของ peak ภายใต้เงื่อนไขของ chromatographic ที่จะสามารถรับรู้ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับว่าสารประกอบที่จะทำการแยกคืออะไร และสัมพันธ์กับสารตัวอย่างอย่างไร chromatographer อาจต้องเลือกเงื่อนไข เลือกคุณสมบัติของ mobile phase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ติดตามกระบวนการแยก ตลอดจนกระทั่งสารประกอบที่ต้องการมีการรวมกันและหลุดออกจาก stationary phase การแพร่ของสารประกอบและสารปนเปื้อนอื่น ๆ จะแพร่ผ่าน column แตกต่างกันพอที่จะได้สารประกอบที่ต้องการมีความบริสุทธิ์ได้

4) Identification การจำแนกชนิดของสารประกอบโดยใช้ HPLC นั้น เป็นขั้นตอนหนึ่งของการตรวจสอบด้วย HPLC ในการจำแนกสารประกอบใด ๆ ก็ตาม สิ่งที่ควรเลือกเป็นอันดับแรกคือ detector เมื่อเลือกมาแล้วมาติดตั้งไว้ในตำแหน่งที่เหมาะสมที่จะทำการตรวจสอบ พารามิเตอร์ของขบวนการตรวจสอบนี้ จะให้ peak ของสารประกอบตัวอย่างอย่างชัดเจน ซึ่งสังเกตได้จาก peak ที่ปรากฏบน chromatograph การจำแนก peak จะใช้ retention time และใช้ peak ที่แยกออกจาก peak ที่ไม่ต้องการ ซึ่งขบวนการต พารามิเตอร์หลาย ๆ ตัวสามารถต ได้โดยการค้นคว้าจาก หนังสือ, ว่าเป็นอะไรจะเป็น ประโยชน์ต่ องสารประกอบเพื่อ ยืนยันความ

เป็นกระบวนการ เปรียบเทียบ อน มีวิธีทำคือ ฉีดชุดของส รตรวจสอบ chromatogr ลายที่ฉีดเข้าไป ใช้ สูตรการหาพ น calibration curve โดยการสร้า ตัวอย่าง ซึ่งสามารถ ใช้โปรแกรม รมสร้างกราฟจะได้ กราฟเส้นตร รเส้นตรงนี้สามารถ นำมาใช้ในก HPLC ให้เป็น แกน X แล้ว peak ที่ปรากฏบน chromatograph ให้เป็นแกน Y ค่า Y นี้ได้มาจากสมการเส้นตรง calibration ดังนั้น จึงสามารถคำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างได้โดยการแก้สมการ หาค่า X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการ

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กับเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) การหาน้ำตาลกลูโคส ดูในภาคผนวก

3.1.2 เค

เค)

เค

รุ่น

ถัง

เค

เค

เค

เค

ตู้เ

ตู้เ

เค

เค

ตู้ท

ตู้เขี่ยเชื้อ (Lamina flow) ของบริษัท ISSCO รุ่น BVT123

เครื่องเขย่าของบริษัท Gallenkamp

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ของบริษัท PYREX^{R}

หลอดทดลอง (test tube) ของบริษัท PYREX^{R}

กระบอกตวง (cylinder) ของบริษัท PYREX^{R}

*บีกเกอร์ (beaker)*ของบริษัท PYREX^{R}

ดิวเวต (แก้ว)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปิเปตต์ (pipette)

ลวดเขี่ยเชื้อ (loop)

เข็มเขี่ยเชื้อ (niddle)

คิวเวต (แก้ว)

3.2 สารเคมี

สารสกัดยีสต์ (yeast extract)

เปปโตน (peptone)

แ

ดี-

ซู

ดี-

ฟ

อ

วุ้

น้ำ

ยู

ไ

แ

แ

ก

ส

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส(KH_2PO_4)

กรดฟอสฟอริก(H_3PO_4)

เมธทานอล

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

ไฮโดรคลอริก (HCl)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

3.3.1 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษ

เชื้อที่ใช้ในการศึกษาโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตกรดแลกติก จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)

3.3.1.1 การเก็บรักษาเชื้อในการวิจัย

ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ (loop) เขี่ยเชื้อจำนวน 1 ลูป เขี่ยเชื้อแล้วลาก (streak) ลงในอาหารแข็ง (MRS ag) นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (Idris และ S 2006) เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นใ เดลองดังกล่าวไว้ใน ถุงพลาส เรือลงในอาหารใหม่ (Subcult

3

MRS broth) ปริมาตร 100 มิลลิ เซียส ความเร็วรอบ 100 rpm กลืนแสงที่ความยาว คลื่น 62(1.5 ด้วยอาหารเหลว ชนิดเดิม

3.4 อาหารเ

ส ร

เป ร

น้ำ	40	กรัมต่อลิตร
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส	1	กรัมต่อลิตร
แมงกานีสซัลเฟส	0.03	กรัมต่อลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต	0.1	กรัมต่อลิตร

ปรับค่าพีเอชของอาหารให้ได้ 6.2-7.0 (Idris และ Suzuna, 2006) แล้วนำอาหารสังเคราะห์ที่เตรียมเสร็จเรียบร้อยแล้ว ไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งไอน้ำที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที (แยกฆ่าเชื้อสารละลายน้ำตาลโดยแยกน้ำตาลมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายกับน้ำกลั่นโดยแบ่งน้ำกลั่นบางส่วนจาก 1,000 มิลลิลิตร มาทำการละลาย โดยฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งไอน้ำที่ อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที)

3.5 การศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

3.5.1 ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

โดยใช้สูตรอาหารที่ทำให้เชื้อผลิตกรดแลกติดได้จากข้อ 3.4 โดยทำการผันแปรชนิดของแหล่งคาร์บอนที่เติมลงไปในอาหารสังเคราะห์ดังนี้

สูตรที่ 1 : สูตรอาหารจากข้อ 3.4 ซึ่งใช้กลูโคส 40 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน (ชุดควบคุม)

สูตรที่ 2 : สู ดี-กลูโคส
40 กรัมต่อลิ

สูตรที่ 3 : สู ดี-มอลโตส
40 กรัมต่อลิ

สูตรที่ 4 : สู ฟรุคโตส
40 กรัมต่อลิ

สูตรที่ 5 : สู ซูโครส
40 กรัมต่อลิต

สูตรที่ 6 : สู น้ำตาลทราย
40 กรัมต่อลิ

เตรีย มิลลิลิตร ปรับค่าพี
เอชของอาห ามดัน 15 ปอนด์ต่อ
ตารางนิ้ว เป็ บน้ำกลั่นโดยแบ่งน้ำ
กลั่นบางส่วน ม 110 องศาเซลเซียส
ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 10 นาที)โดยให้ปริมาตรของอาหารและหัวเชื้อรวมกันคิดเป็นร้อยละ 70 ของปริมาตรฟลาสก์ (เติมอาหาร 166.25 มิลลิลิตร รวมกับหัวเชื้อที่เตรียมได้จาก ข้อ 3.3.1.2 ประมาณ 8.75 มิลลิลิตร) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ คือแต่ละสูตรอาหารจะทำการเตรียม 3 ฟลาสก์ อาหารในฟลาสก์ใบแรกใช้ในการทำตัวเปรียบเทียบ (Blank) ส่วนอีก 2 ฟลาสก์ทำการเติมหัวเชื้อแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะนิ่ง (Stationary flask) โดยในขณะทำการทดลองให้ทำการเก็บน้ำหมักทุก ๆ 12 ชั่วโมง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 96 วิเคราะห์หาปริมาณชีวมวลตามวิธีของ AOAC; 2000 ปริมาณกรดแลกติกโดย HPLC (กรัมต่อลิตร) และวัดปริมาณน้ำตาลโดยวิธีการวิเคราะห์ของ Dubois (กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อลิตร) ปริมาณผลได้ หรือ %Yield (กรัมกรดแลกติกต่อกรัมกลูโคส) และ อัตราการผลิตต่อชั่วโมง (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

3.5.2 ศึกษาปริมาณของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

เลือกแหล่งคาร์บอนที่ทำให้เชื้อผลิตกรดแลกติกได้ดีที่สุดจากข้อ 3.5.1 โดยผันแปรความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ดังนี้

สูตรที่ 1 : สูตรอาหารที่เลือกจากข้อ 3.5.1 ใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 2 : สูตรอาหารที่เลือกจากข้อ 3.5.1 ใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณ 30 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 3 : สูตรอาหารที่เลือกจากข้อ 3.5.1 ใช้แหล่งคาร์บอนปริมาณ 40 กรัมต่อลิตร

สูตรที่ 4 : ส

เต มิลลิลิตร ปรับค่าพี
เอชของอาห ามดัน 15 ปอนด์ต่อ
ตารางนิ้ว เป็ บน้ำกลั่นโดยแบ่งน้ำ
กลั่นบางส่วน 110 องศาเซลเซียส
ความดัน 15 อรวมกันคิดเป็นร้อย
ละ 70 ของ ด้จาก ข้อ 3.3.1.2
ประมาณ 8.7 ฟลาสก์ อาหารในฟ
ลาสก์ใบแรก วเชื้อแล้วนำไปบ่มที่
อุณหภูมิ 37 ห้ทำการเก็บน้ำหมัก
ทุก ๆ 12 ชั่ ธีของ AOAC.,2000
ปริมาณกรดแ ของ Dubois(กรัมต่อ
ลิตร) ปริมาณ ต่อชั่วโมง (กรัมต่อ
ลิตรต่อชั่วโม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ถวายเป็นพระราชสมบัติ พระบาทสมเด็จพระจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว

3.5.3 ศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตกรดแลกติก ในฟลาสก์และถังหมักขนาด 2 ลิตร

เลือกความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติกที่ดีที่สุดจากข้อ 3.5.2 และสภาวะเหมาะสมต่างๆที่ได้จากงานทดลองร่วมกันอีก 3 กลุ่ม (มัทนา และคณะ, 2550 ; ณัฐวุทธิ และจิราภรณ์, 2550, เชิดศักดิ์ และคณะ, 2550) มาทำการหมักเพื่อผลิตกรดแลกติกในระดับฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร และ ในถังหมักขนาด 2 ลิตร เพื่อทำการเปรียบเทียบผลผลิตกรดแลกติกที่ได้ ในขณะเดียวกันมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ในปริมาณ 2% ลงไป เพื่อศึกษาดูผลของการเกิดกรดแลกติกที่อาจเพิ่มขึ้น เนื่องจากแคลเซียมคาร์บอเนต เป็นตัวสารที่ทำให้ปริมาณการหมักกรดเพิ่มขึ้นตามรายงานของ Ohkouchi (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบที่ 1: หมักในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร โดยใช้อัตราการเติมอาหารตามสูตรโดยเปลี่ยนชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนให้เป็นไปตามข้อ 3.5.1 และ 3.5.2 ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ฟลาสก์ โดย ฟลาสก์ที่ 2 มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ปริมาณ 2% ลงไป (โดยฟลาสก์ที่ 1 จะไม่มีการเติมสารดังกล่าว) เพื่อเปรียบเทียบผลของกรดแลกติกที่ได้กับฟลาสก์แรก และแบบถังหมัก และเตรียมอาหารเปล่าที่ไม่ใส่เชื้อเพื่อใช้เป็น blank อีก 1 ฟลากส์ (ประมาณ 500 มิลิลิตร)

แบบที่ 2: หมักถังหมัก (Fermentor) ขนาด 2 ลิตร โดยใช้อัตราการเติมอาหารตามสูตรโดยเปลี่ยนชนิดและความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนให้เป็นไปตามข้อ 3.5.1 และ 3.5.2 ตามลำดับ และเติมแคลเซียม-คาร์บอเนต ปริมาณ 2% ลงไปเพื่อเปรียบเทียบผลของกรดแลกติกที่ได้กับแบบฟลาสก์ และเตรียมอาหารเปล่าที่ไม่ใส่เชื้อเพื่อใช้เป็

ทำก ationary flask) โดย
ในขณะทำกา มงที่ 96 วิเคราะห์หา
ปริมาณชีวม ะวิเคราะห์ทุกๆ 24
ชั่วโมง) โดย ubois (กรัมต่อลิตร)
ปริมาณผลได โมง (กรัมต่อลิตรต่อ
ชั่วโมง) โดย ระดับถังหมัก

3.6 การวิเค

1. วัดชีว Kyoto, Tapan)
2. วัดมา รอบ 3, 000 รอบต่อ
นาทีเป็นเวลา ความชื้น (desicator)
ทิ้งไว้ให้เย็น

3. การวิ erformance Liquid Chromatography) โดยน้ำหมักที่ได้จากการเก็บตัวอย่างชั่วโมงต่างๆ มาทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลาครึ่งชั่วโมงจากนั้นนำส่วนใสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณกรดแลกติกโดย นำส่วนใสไปกรองผ่านเซลลูโลสเมมเบรน ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ใช้ Inersil C8-3 column ใช้ฟอตเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3.0) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลสาร์ เป็นตัวชะที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส (ภาคผนวก ข)

4. การวัดปริมาณน้ำตาล (กรัมต่อลิตร) โดยวิธีการวิเคราะห์ของ Dubois (ภาคผนวก ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ปริมาณผลได้ หรือ %Yield (กรัมกรดแลกติกต่อกรัมกลูโคส) และ อัตราการผลิตต่อชั่วโมง (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)

6. เปรียบเทียบและสรุปผลของปริมาณกรดแลกติกที่ได้ ในแต่ละขั้นตอนของการศึกษาการผลิตกรดแลกติก โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei ATCC* 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นที่เหมาะสม

3.7 วิเคราะห์ทางสถิติ

แต่ละการทดลองเป็นแบบสุ่มอิสระโดยสมบูรณ์ โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ ค่าทางสถิติใช้ SPSS 13.0 (*Statistical P* (new multiple range test) ทดสอ มีนัยสำคัญทางสถิติ *หรือไม่*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863

4.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

ในอาหารสังเคราะห์ที่
มีแหล่งคาร์บ น้ำตาลซูโครส น้ำตาล
มอลโตส น้ำ โคส น้ำตาลมอลโตส
น้ำตาลฟรุกโ ยงกัน โดยมีช่วงการ
เจริญเติบโต เว 620 นาโนเมตรได้
เท่ากับ 3.19(ลแลคโตส เป็นแหล่ง
คาร์บอน จะ มยาวคลื่นเดียวกันได้
2.255 และใ ญสูงสุด ณ ชั่วโมงที่
84 และวัดค่า ังจากนั้นเชื้อจะเจริญ
เข้าสู่ช่วงที่ก ชั่วโมงที่ 96 ซึ่งจะ
สังเกตได้ว่าก ่างต่อเนื่อง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้สร้างขึ้นโดยพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

4.1. CC 10863 ในอาหาร
สังเคราะห์ที่

การศึกษาปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน 6 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลคโตส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลทราย พบว่าน้ำตาลกลูโคสสามารถผลิตกรดแลกติกได้สูงสุด คือ 22.2468 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ (yield) และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.698 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.3090 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ดังในตารางที่ 4.1 รองลงมาคือแหล่งคาร์บอนที่ใช้น้ำตาลทรายผลิตกรดได้ 20.0204 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.532 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.2781 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ในขณะที่น้ำตาลซูโครสผลิตกรดได้

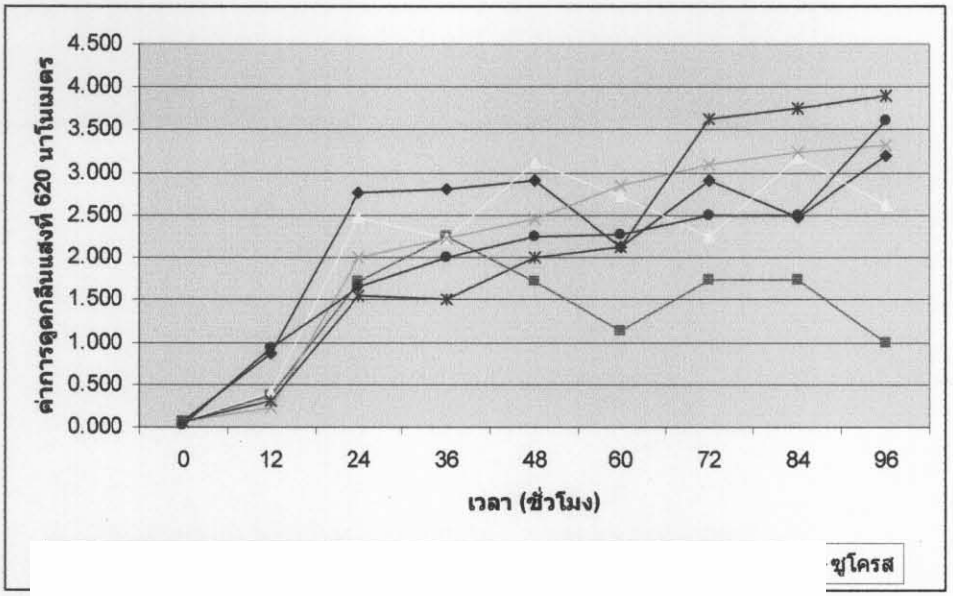
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

16.3322 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 84 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.476 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.1944 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง น้ำตาลแลคโตสผลิตกรดได้ 16.2443 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 84 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.454 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.1932 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง น้ำตาล ฟรุกโตสผลิตกรดได้ 15.8722 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.454 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.2204 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และน้ำตาลมอลโตสผลิตกรดได้ 15.4684 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.461 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.2148 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับดังในตารางที่ 4.1 เมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 13.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 พบว่าน้ำตา ส่วนน้ำตาลกลูโคส และน้ำตาล อย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติกับ 4 ตั าปริมาณกรดสูงที่สุด ดังแสดงใน ริมาณความเข้มข้นที่ เหมาะสมใ) ที่ศึกษาเรื่องการใช้ กลูโคสเป็น มชาติภายใต้เงื่อนไข เดียวกัน

ตารางที่ 4.1 *Lactobacillus casei* ATCC 1086

แหล่งคาร์บ					เการผลิตกรด ลิตรต่อชั่วโมง)
น้ำตาลกลูโ					0.309
น้ำตาลแลคโตส	84	5.15	16.2443	0.454	0.193
น้ำตาลทราย	72	5.12	20.0204	0.532	0.278
น้ำตาลมอลโตส	72	3.37	15.4684	0.461	0.215
น้ำตาลฟรุกโตส	72	3.18	15.8722	0.454	0.220
น้ำตาลซูโครส	84	3.66	16.3322	0.476	0194

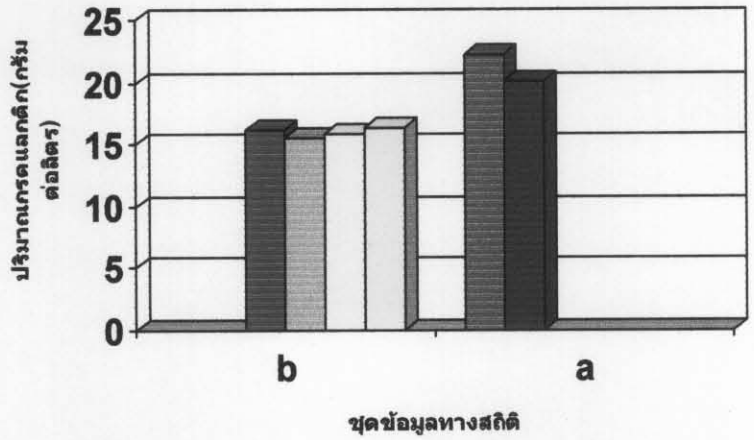
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 การศึ ารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างช 6.5-7.0 ที่สภาวะนิ่ง

รูปที่ 4.2 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกันภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.5-7.0 ที่สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

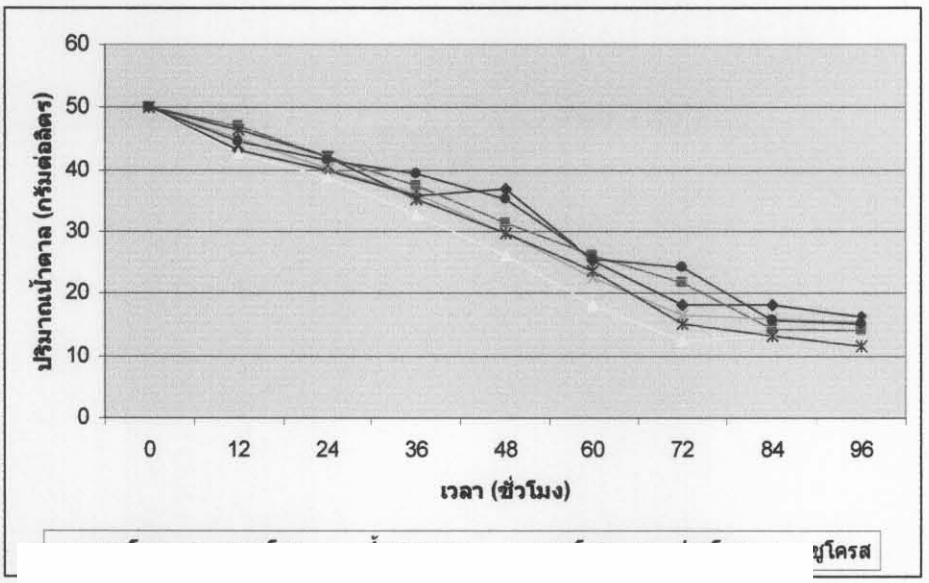


รูปที่ 4.3 กรา[illegible]ล่งคาร์บอนต่างชนิด กัน

4.1.3 [illegible] ***sei* ATCC 10863 ใน อาหารสังเคร**[illegible]

กัน 6 ชนิด คือ น้ำตาล กลูโคส น้ำตา[illegible]ทราย โดยในแต่ละสูตร จะมีความเข้ม[illegible]ัก เชื้อจะใช้น้ำตาลใน กระบวนการ[illegible]ลง และเมื่อสิ้นสุด กระบวนการ[illegible]ำตาลกลูโคสลดลงเหลือ 16.207 กรัมต่[illegible]งเหลือ 14.0001 กรัมต่อ ลิตร คิดเป็นร้[illegible]รัมต่อลิตร คิดเป็นร้อย ละ 69.76 ของ[illegible]เป็นร้อยละ 69.06 ของ น้ำตาลที่ถูกใช้ไป ไป น้ำตาลฟรุกโตสลดลงเหลือ 11.536 กรัมต่อลิตร คิดเป็นร้อยละ 76.93 ของน้ำตาลที่ถูก ใช้ไป ดังแสดงในรูปที่ 4.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

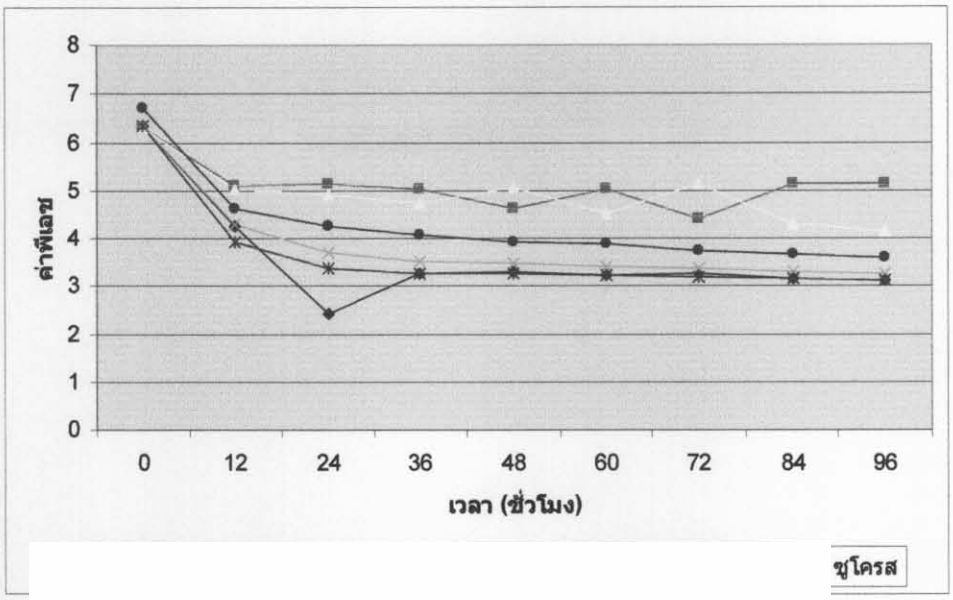


รูปที่ 4.4 ปริม ...3 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์... พีเอช 6.5-7.0 ที่สภาวะนิ่ง

4.1.4 ...*sei* **ATCC 10863 ใน อาหารสังเคร...**

...ะห์ทั้ง 6 สูตร จะมีแนวโน้มใกล้... ...กรดของน้ำตาลกลูโคสน้ำตาลแลคโ... ...6.35, 6.32, 6.71, 6.34, 6.34 และ 6.3... ...หลังจากนั้นค่า พีเอช จะมีการเปลี่ย... ...หว่าง 3.11 ถึง 5.15 ดังแสดงในรูปที่... ...ได้ศึกษาเกี่ยวกับสภาวะพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกให้ได้ปริมาณสูงสุดจากวัตถุดิบเหลือใช้ทางธรรมชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



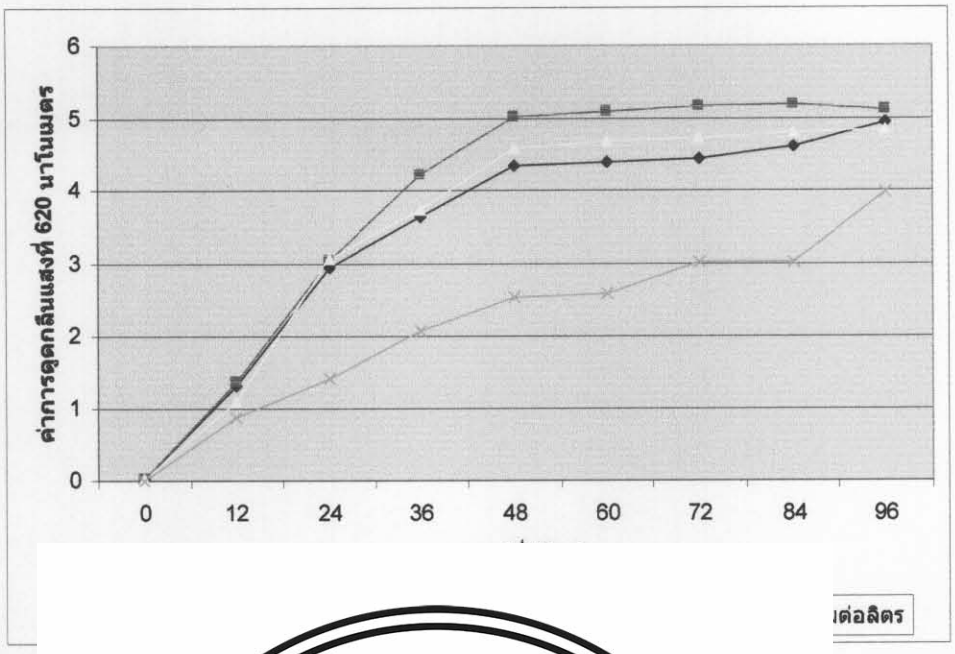
รูปที่ 4.5 กา CC 10863 ในอาหาร
สังเคราะห์ที่มี ชลเซียส พีเอช 6.5-
7.0 ที่สภาวะ

4.2 การ การผลิตกรดแลกติก
โดยเชื้อ *Lac*

4.2.1 ในอาหารสังเคราะห์ที่
ใช้น้ำตาลกลูโ

CC 10863 ในอาหาร
สังเคราะห์ที่ใ 0, 40 และ 50 กรัมต่อ
ลิตร ทั้งสิ้น 4 งการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน
โดยมีช่วงการ 40 และ 50 กรัมต่อลิตร
วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เท่ากับ 4.950, 4.850 และ 3.990 ตามลำดับ ส่วนช่วงการเจริญเติบโตสูงสุดของกลูโคสความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 84 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร เท่ากับ 5.190 หลังจากนั้นเชื้อจะเจริญเข้าสู่ช่วงที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่ โดยเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้าย ณ ชั่วโมงที่ 96 ดังแสดงดังรูป 4.6 โดยสังเกตได้ว่าการเจริญเติบโตของเชื้อมีความสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปอย่างต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

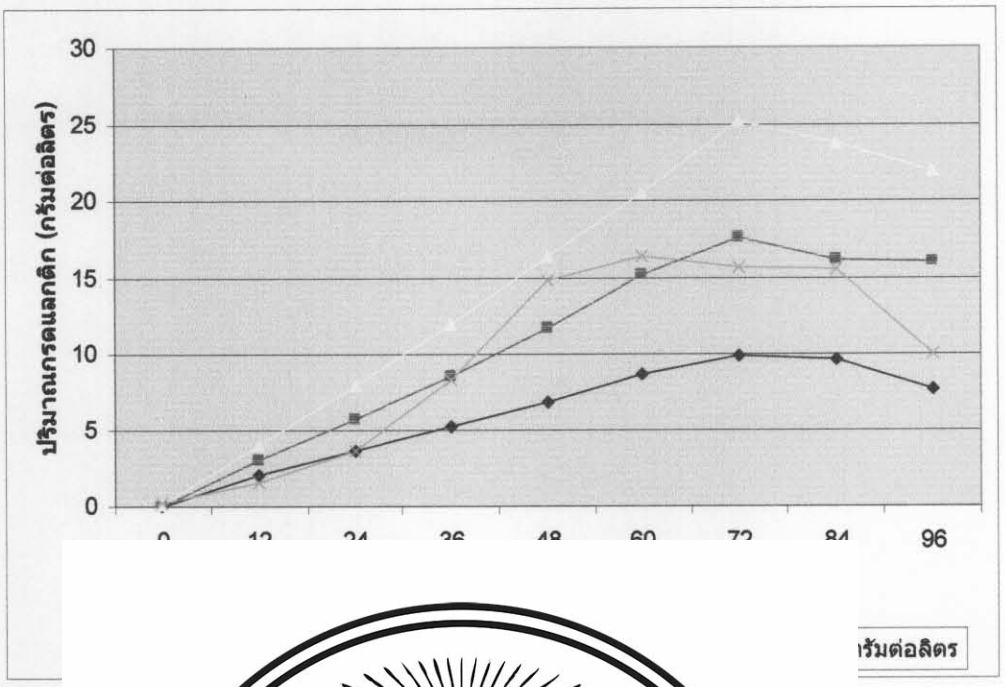


รูปที่ 4.6 การ สังเคราะห์ที่ใช้น้ำตาล
กลูโคสความเ องศาเซลเซียส พีเอช
6.5-7.0 ที่สภา

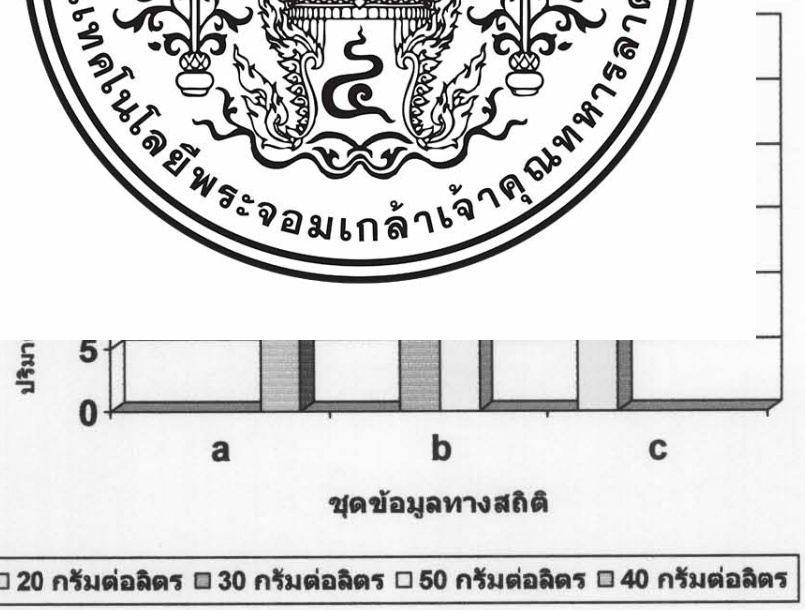
4.2.2 TCC 10863 ในอาหาร
สังเคราะห์ที่ใ

TCC 10863 ในอาหาร
สังเคราะห์ที่ใ คาร์บอนพบว่าที่น้ำตาล
กลูโคสความเ ที่ 60 คำนวณเป็นผลได้
และอัตราการ ลิตรต่อชั่วโมง น้ำตาล
กลูโคสความเ โมงที่ 72 คำนวณเป็น
ผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.900 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.2439 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ผลิตกรดแลกติกได้ 25.3222 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.984 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.3517 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 50 กรัมต่อลิตร ผลิตกรดแลกติกได้ 16.3466 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 60 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.502 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.2724 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.7 และเมื่อนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 13.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 แบ่งช่วงความแตกต่างได้ออกเป็น 3 ส่วน พบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

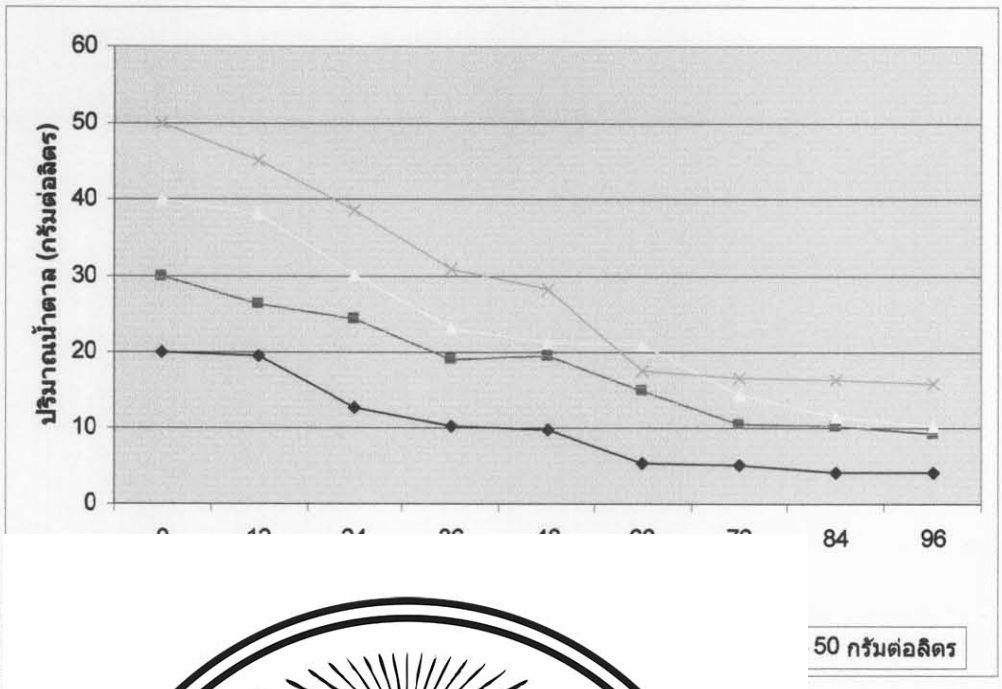


รูปที่ 4.7 ปริ อาหารสังเคราะห์ที่ใช้
น้ำตาลกลูโคส ภูมิ 37 องศาเซลเซียส
พีเอช 6.5-7.0



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ของการผลิตกรดแลกติกจากความเข้มข้นกลูโคสที่ต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



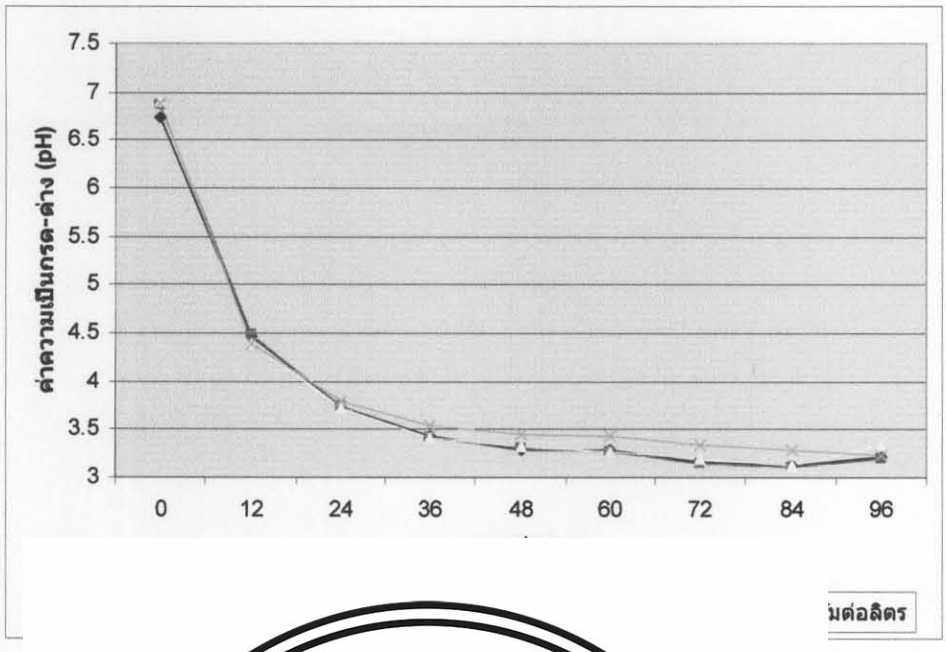
รูปที่ 4.9 ป ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATC เหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะการห

4.2.4 illus casei **ATCC 10863 ในอาห**

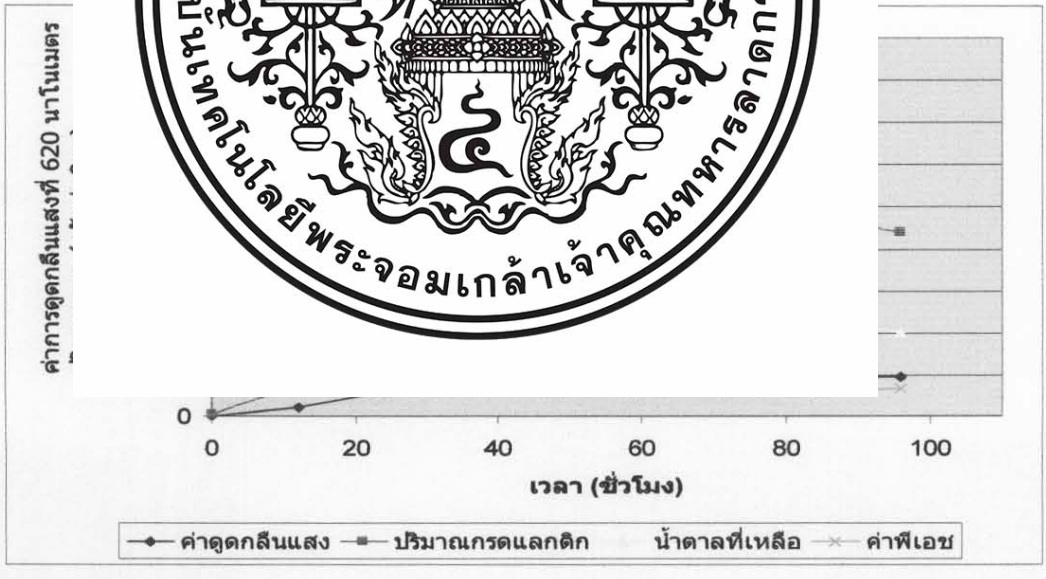
เหารสังเคราะห์ทั้ง 4 สูตร จะมีแน ในกรด-ด่างของน้ำตาล กลูโคสที่ควา ตามลำดับ โดยค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็นกรด-ด่าง จะมีการเปลี่ยนแปลงไปอีกเพียงเล็กน้อย โดยมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 3.19 ถึง 3.35 ดังแสดงในรูปที่ 4.10

จากข้อมูลของผลการทดลองเบื้องต้นนั้นเมื่อเรานำค่า การเจริญเติบโตของเซลล์(การดูดกลืนแสง) ปริมาณกรดแลกติกที่ได้ ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป และค่าการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรด-ด่าง ที่ได้จากการศึกษากระบวนการหมักกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ พบว่าเมื่อใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร จะผลิตกรดแลกติกได้ปริมาณสูงสุดนั้น มาทำการแสดงผล ค่าต่างๆ ที่ได้จะสัมพันธ์กันดังรูปที่ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 กา ในอาหารสังเคราะห์ที่ มีน้ำตาลกลูโ ภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.5-7.0



รูป4.11 การเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าการเจริญเติบโต ปริมาณกรดแลกติก(กรัมต่อลิตร) ปริมาณน้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช ที่เกิดจากการหมักกรดแลกติกที่ความเข้มข้นกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.5-7.0 ที่สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้แหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นที่เหมาะสม ในระดับฟลาสก์และระดับถังหมักขนาด 2 ลิตร

4.3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหารสำหรับการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863

จากการศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมของการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ซึ่งจากการศึกษาพบว่า

แหล่
แหล่ น 10 กรัมต่อลิตร
(มัท
แหล่ O_4) 1 กรัมต่อลิตร
แมงกานีสซัล .$7H_2O$) 0.1 กรัมต่อ
ลิตร (ณัฐวุทธิ
อุณห ะคณะ, 2550)
สภา มักใบกวนความเร็ว
รอบ 100 rpm

สูตรอาหารเลี้

ยีสต์		ร
เปปโ		ร
กลูโ		ร
ไดโพ		ร
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.4H_2O$)	0.03	กรัมต่อลิตร
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.1	กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นที่ 40 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอน ภายในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร 2 ชุดคือชุดแรกจะไม่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) แต่ชุดที่ 2 กับถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ลงไป 2% ทำการหมักกรดแลกติก พบว่าเราสามารถหาค่าการเจริญเติบโตของเซลล์โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงและการหาน้ำหนักแห้งได้เฉพาะการหมักในฟลาสก์ 2 ลิตรชุดแรกเท่านั้น เพราะเนื่องจากที่เหลือมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์หาค่าดังกล่าวได้ เมื่อนำฟลาสก์ชุดแรกมาทำการ มงที่ 84 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ นักแห้งของเซลล์ได้เท่ากับ 0.029 วอย่างครั้งสุดท้าย ณ ชั่วโมงที่ 96 ค์กับน้ำหนักแห้งของเซลล์

4.3.3 *illus casei* ATCC 10863 ในสภ

มต้นที่ 40 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่ การเจริญเติบโตของเซลล์ ซึ่งทำใ บว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโค ในร้อยละ 40.05 ของน้ำตาลที่ถูกใ องน้ำตาลที่ถูกใช้ไปความเข้มข้นจ อลิตร คิดเป็นร้อยละ 53.05 ของน้ำตาลที่ถูกใช้ไปดังแสดงในรูปที่ 4.13

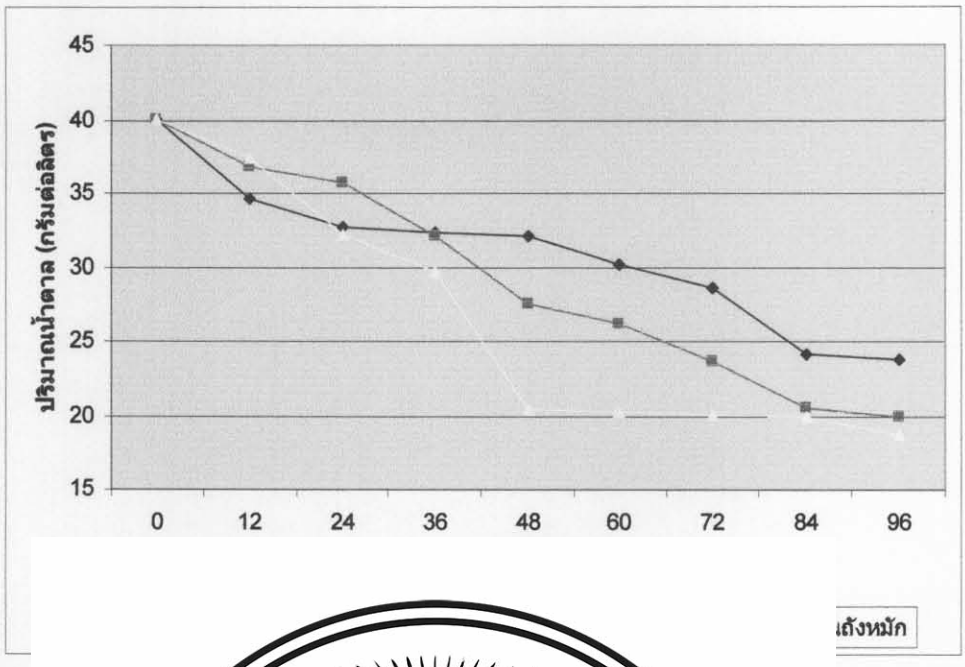
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

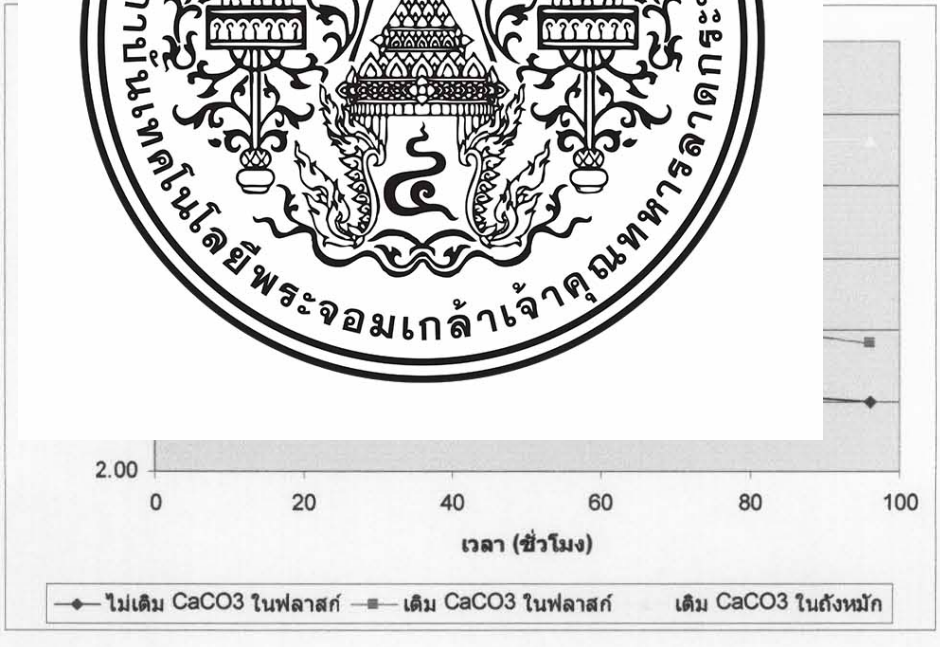
จากการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชในอาหารสังเคราะห์ทั้ง 2 แบบ มีแนวโน้มใกล้เคียงกันคือ ในชั่วโมงที่ 0 (เริ่มต้นกระบวนการหมัก) ค่าพีเอชของน้ำตาลกลูโคสในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตรชุดแรกและชุดที่สอง คือ 6.85 และ 7.36 ตามลำดับ และภายในถังหมักขนาด 2 ลิตร คือ 6.88 โดยค่าพีเอชจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 60 และหลังจากนั้นค่าพีเอชจะมีการเปลี่ยนแปลงไปอีกเพียงเล็กน้อย โดยมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วงพีเอช ระหว่าง 3.00 ถึง 6.63 ดังแสดงในรูปที่ 4.14

รูปที่4.12 การ ...ะสมของแหล่ง
อาหาร ในรูป ...มต่อลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ปริ *asei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เ



รูปที่ 4.14 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

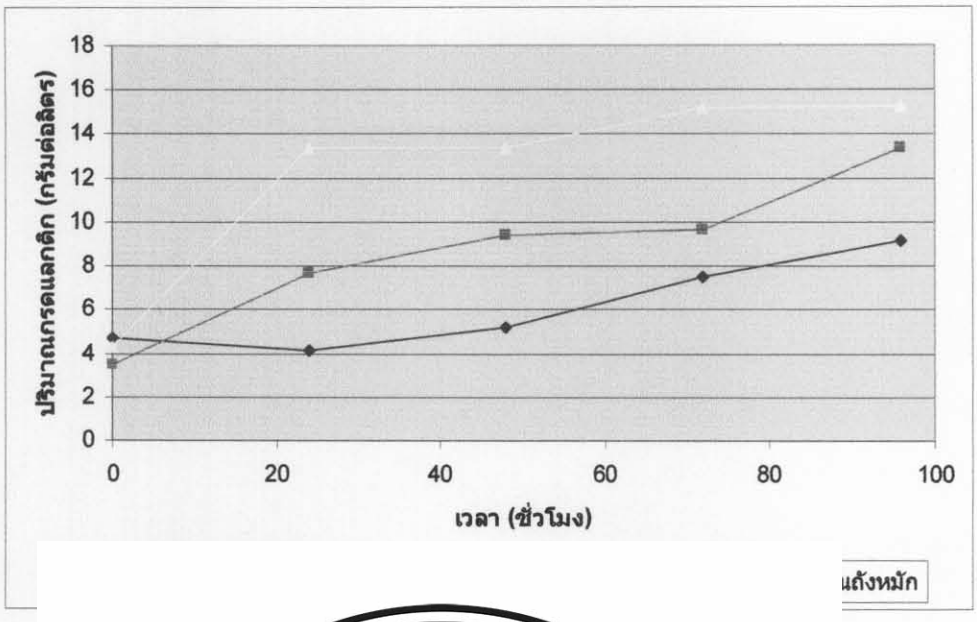
4.3.5 การศึกษาปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

การศึกษาปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าการหมักในฟลากส์ขนาด 2 ลิตร ชุดแรกผลิตกรดแลกติกได้ 9.162 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 96 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.558 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.095 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ชุดที่สองผลิตกรดแลกติกได้ 13.350 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 96 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.666 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.1391 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ส่วนการหมักกรดแลกติกในถังหมักขนาด 2 ลิตร ผลิตกรดแลกติ[illegible]การเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.720 [illegible]ที่ 4.3 และรูปที่ 4.15 และเมื่อนำผล[illegible] 13.0 ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 [illegible]ก์ที่ 2 แต่ทั้งถังหมักและฟลาสก์ที่[illegible] 6 แต่ในถังหมักนั้นก็มีกรดแลก-[illegible]ผลต่อการเพิ่มปริมาณการผลิตกรดแ[illegible]ติกด้วยสารแคลเซียมคาร์บอเนตขอ[illegible]

ตารางที่ 4.3 ผ[illegible]ำการหมักภายในฟลากส์ขนาด 2[illegible]ะสมของแหล่งอาหาร

ชนิดการหมั[illegible]	[illegible] (ชั่วโมง)	[illegible]	[illegible] (กรัมต่อลิตร)	[illegible] น้ำตาล)	การผลิตกรด (กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง)
ฟลากส์ ชุด 1	96	3.00	9.1623	0.5580	0.095
ฟลาสก์ ชุด 2	96	3.80	13.3504	0.6655	0.139
ถังหมัก	96	6.63	15.2726	0.7197	0.159

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

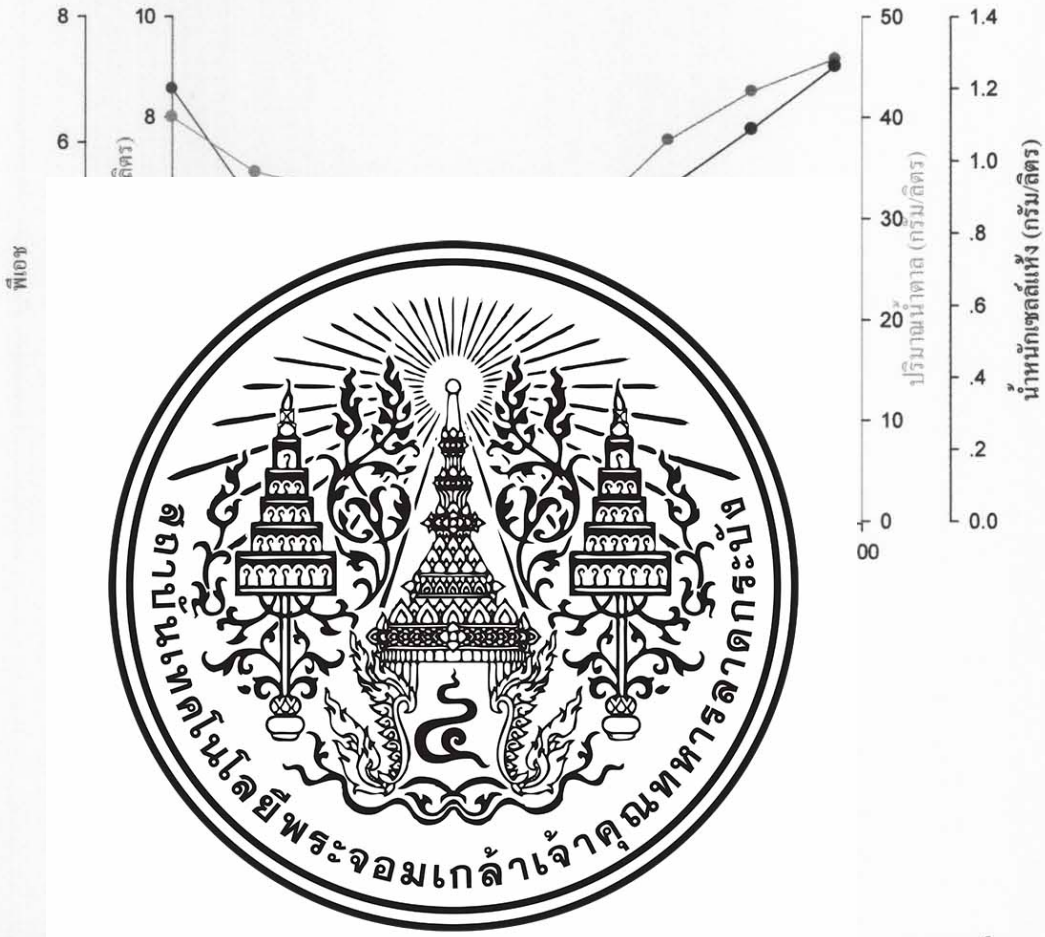


รูปที่ 4.15 ปริ หมาะสมของแหล่งอาหาร

รูปที่ 4.16 กราฟแสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติ ของการเปรียบเทียบการผลิตกรดแลกติกจากอาหารและสภาวะที่เหมาะสมในระดับฟลาสก์และถังหมักขนาด 2 ลิตร

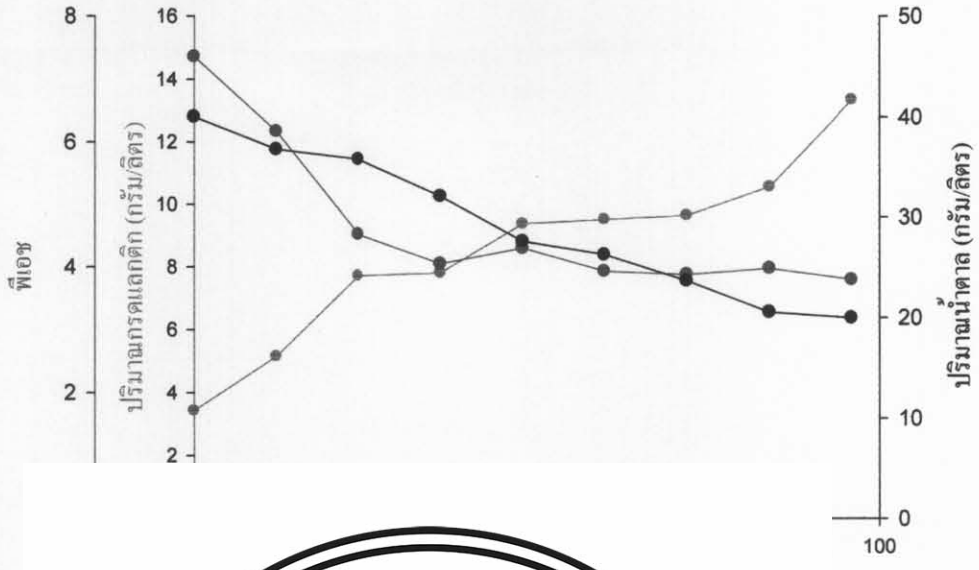
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเมื่อเรานำผลที่ได้ต่างๆ จากการหมักกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหารและสภาวะแวดล้อม ดังที่กล่าวข้างต้น (ข้อ 4.3.1) โดยรายงานผลเป็นกราฟผลรวมแยกตามระบบการหมัก ทั้ง 3 แบบ คือ แบบฟลาสก์ขาด 2 ลิตร ที่ไม่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต แบบฟลาสก์ขาด 2 ลิตร ที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต และ แบบถังหมักขนาด 2 ลิตรที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ได้ดังรูป ที่ 4.14, 4.15 และ 4.16 ตามลำดับดังต่อไปนี้



รูปที่ 4.14 กร *sei* ATCC ใน
ฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร ชุดแรก ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

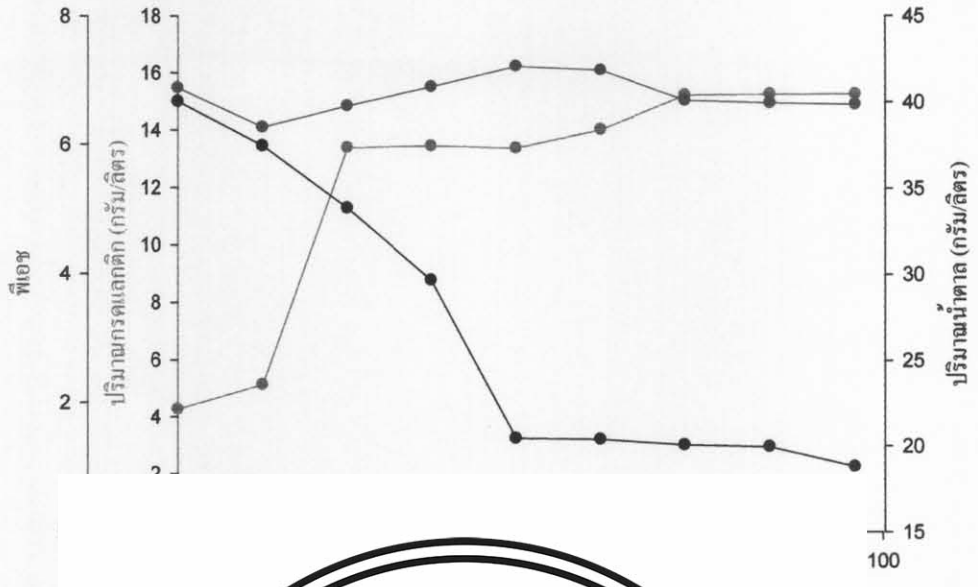


รูปที่ 4.15 ก

ısei ATCC ใน

ฟลาสก์ขนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.16 กร *sei* ATCC ใน ถัง
หมักขนาด 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบที่ต่างกัน 6 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลคโตส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลทราย พบว่า น้ำตาลกลูโคสให้ผลผลิตกรดแลกติกในปริมาณสูงที่สุดคือ สูงสุด คือ 22.247 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ (yield) และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.698 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.3090 กรัม[illegible]การใช้กลูโคสเป็น แหล่งคาร์บอ[illegible]ได้เงื่อนไขเดียวกัน รองลงมาคือ[illegible]โมงที่ 72 คำนวณ เป็นผลได้ [illegible]78 กรัมต่อลิตรต่อ ชั่วโมง และ[illegible]ลของกรดแลกติกที่ ได้จากการใ[illegible]ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ยกเว้น[illegible]ุดในการนำมาเป็น แหล่งคาร์บอ[illegible]ลือกน้ำตาลกลูโคส นำมาศึกษาธ[illegible]วามเข้มข้นเริ่มต้นที่ 20, 30, 40 [illegible]แลกติกได้ 25.322 กรัมต่อลิตร[illegible] 0.984 กรัมต่อกรัม น้ำตาล และ[illegible]สูงสุดจากทุกความ เข้มข้น

ดังนั[illegible]ตาลกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร มาใช้ร่วมในสูตรอาหารสังเคราะห์เพื่อทำการหมักและผลิตกรดแลกติก จะได้ปริมาณกรดแลกติกในปริมาณสูงสุด จากการศึกษาจากแหล่งคาร์บอนหรือน้ำตาลทั้ง 6 ชนิด เบื้องต้น

และเมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรด ระหว่างการหมักในฟลาสก์ขนาด 2 ลิตร เปรียบเทียบกับการหมักในถังหมัก (fermentor) ขนาด 2 ลิตร โดยที่นำงานทดลองของ Ohkouchi และ Inoue (2006) เรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพด้านปริมาณของกรดแลกติกที่จะได้ เมื่อมีการเติม แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) ลงไปในสูตรอาหารสังเคราะห์ร่วมกันในปริมาณ 2% จากการทดลอง พบว่า เมื่อเราทำการทดลองผ่านไปโดยให้ทำการหมักในฟลาสก์ 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ไม่มีการเติม แคลเซียมคาร์บอเนต ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 9.162 กรัมต่อลิตร แบบที่ 2 เติมแคลเซียม คาร์บอเนต ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 13.350 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับในถังหมักที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 15.273 กรัมต่อลิตร จะเห็นว่าเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ที่เจริญในฟลาสก์สามารถอธิบายเรื่องการผลิตกรด แลกติกได้มากขึ้นเมื่อมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตและเมื่อเปรียบเทียบกับถังหมักขนาด 2 ลิตรที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนตสามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงที่สุดนั้นก็สอดคล้องกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักสามารถควบคุมความเร็วรอบของใบพัดกวนในอัตราเร็วที่เหมาะสมได้ซึ่งในการทดลองนี้กำหนดให้ ทำให้เชื้อสามารถสัมผัสกับอาหารได้อย่างทั่วถึงและในถังหมักสามารถควบคุมค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ได้ การเติมแคลเซียมคาร์บอเนตลงไปเพื่อให้แคลเซียมคาร์บอเนตแตกตัวจะเกิดเป็นแคลเซียมแลคเตท และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งเป็นตัวสะเทิน (neutralizer) ในระหว่างการหมัก แต่เมื่อ แคลเซียมคาร์บอเนตมีความเข้มข้นมากถึง 10 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ กลาย ...ได้ยากตามไปด้วย (Ohkouchi ...

ดังก ...ยเชื้อ *L. casei* ครั้งต่อไป พอจ ...ของแหล่งคาร์บอนคือ ควรเริ่ม ...าของการผลิตสารเพื่อให้ได้ปร ...งหมักขนาด 2 ลิตรมีประโยชน์ ...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชลัท ศานติวรางคณา. 2534. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเครื่องดื่มจากเวย์ ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ลัญจกร จันทร์อุดม, สุกัญญา จันทะชุม และอรัญ หันพงศ์กิตติกูล. 2548. การพัฒนาสูตรอาหารเพื่อการผลิตแคเทอริโอซินจาก *Lactobacillus casei* ssp. *rhamnosus* SN 11. Songkhlanakarin *J.Sci.Technol Vol 27* (Suppl.3). 817-824.

วนปรัสต์ กัลยาวงษ์, ศิริวรรณ พูลพันธุ์, วิทยา ปั้นสุวรรณและอาภรณ์ วงษ์วิจารณ์. 2545. การเจริญ และการ :ชุมวิชาการ วิทยาศา

วรรณา ตั้งเจ นม ภาควิชา อุตสาห คุณทหาร ลาดกระ

ศิวาพร ศิวเว :ฝึกอบรม การเกษ

ศูนย์พัฒนาผ :การจัดการเอกสาร การฝึกอบร :62.

Bulut, S. Eli) –lactic acid product

Dailey, O. D solubilization of prote

Food and Drug Administration. 1999. Code of Federal Regulations, U.S. Government Printing Office,Washington. D.C. Title 21.

Fitzpatrick, J. J. Ahrens, M. Smith, S. 2001. Effect of manganese on *Lactobacillus casei* fermentation to produce lactic acid from whey permeate. *Process Biochemistry* (36) : 671-675.

Fitzpatrick, J. J. and O'Keeffe, U. 2001. Influence of whey proteinhydrolysate addition to whey permeate batch fermentations for producing lactic acid. *Process Biochemistry* (37) : 183-186.

Fitzpatrick, J. J. Murphy, C. Mota, F. M. Pauli, T. 2003. Impurity and cost consideration for nutrient

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

supplementation of whey permeate fermentation to produce lactic acid for biodegradable plastics. *International Dairy Journal* (13) :575-580.

Gardner, W. H. 1972. Acidulants in food processing. Hand book of food additive 2nd ed. Vol 1:225-270.

Huang ,L. P. Jin, B. Lant, P. Zhou, J. 2005. Simultaneous saccharification and fermentation of Potato starch wastewater to lactic acid by *Rhizopus oryzae* and *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal* (23) : 265-276.

Idris, A. and ...eter, initial pH and ter... ...zed *L. delbrue*...

Kadam, S. I... ...n improv... *Lactob*... ...*emistry* (41) :120-12...

Kulozik, U. ... ...ns in whey ultrafilt... ...24) :297-302.

Muller, V. ...

Nancib, N. ... ...1. The effect of supp... ...a from date juice by... ...49-153.

Nancib, A. ... ...eph. 2005. Joint effect of on lactic acid production by *Lactobacillus casei* subsp.*rhamnosus*. *Bioresource Technology* (96) :63-67.

Narayanan, N. Roychoudhury, P. K. Srivastava, A. 2004. L(+) lactic acid fermentation and its product polymerization. *Electronic Journal of Biotechnology* Vol.7 No2 :167-179.

Oh, H. Wee, Y. J. Yun, J. S. Han, S. H. Jung, S. Ryu, H. W. 2005. Lactic acid production from agricultural resources as cheap raw materials. *Bioresource Technology* (96) : 1492-1498.

Ohkouchi, Y., Inoue, Y.,2006. Direct production of L(+)-lactic acid from starch and food wastes using *Lactobacillus manihotivorans* LMG18011.*Bioresource Technology* 97, 1554-1562.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Pauli, T and Fitzpatrick, J. J. 2002. Malt combing nuts as a nutrient supplement to whey permeate for producing lactic by fermentation with *Lactobacillus casei*. *Process Biochemistry* (38) :1-6.

Roukas, T and kotzekidou, P.1998. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* cell using fedbatch culture. *Enzyme and Microbial Technology* (22) : 199-204.

Salminen, S gical and Functio

Senthuran, A tion by Immobi zation. *Journal*

Sodergard, A heir correlat

Tanaka, T. I Prodution of D-latic ntation. *Bioreso*

www.raritar

www.techni

www.bright

www.genon

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

1.1 อาหารเหลว (MRS broth) ประกอบด้วย

สารสกัดยีสต์ (yeast extract)	5	กรัม
เปปโตน (peptone)	10	กรัม
ไ		รัม
เ		รัม
เ		รัม
เ		รัม

วิธีก

ริมาตร 800 มิลลิลิตร ปร ณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส คว

รอาหารปริมาตรรวม 1,000 มิลลิล ในไอที่อุณหภูมิ 110 องศา-เซลเซี

ปลอดเชื้อก่อนนำไปใช้งาน

1.2 อ

สารสกัดยีสต์ (yeast extract)	5	กรัม
เปปโตน (peptone)	10	กรัม
น้ำตาลกลูโคส (glucose)	40	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟส (K_2HPO_4)	1	กรัม
แมงกานีสซัลเฟส ($MnSO_4 . 4H_2O$)	0.03	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 . 7H_2O$)	0.1	กรัม
วุ้น (agar)	15	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1. ชั่งส่วนประกอบทั้งหมดยกเว้นน้ำตาลกลูโคสนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ค่าประมาณ 6.2-7.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศา-เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

2. ชั่งน้ำตาลกลูโคสนำมาละลายน้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร (สูตรอาหารปริมาตรรวม 1,000 มิลลิลิตร) ปรับพีเอชให้ได้ค่าประมาณ 6.2-7.0 นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยตู้นึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 110 องศา-เซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 10 นาที

3. นำอาหารและสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ได้มาเทรวมกันขณะที่ยังร้อนอยู่ เพื่อป้องกันการแข็งตัวของวุ้

2. สารเคมี

สาร **เอช 3**

เข้มข้น 0.1 โม-ลาร์

(ชั่งโพแทสเซ

(ตวงกรดฟอสฟิวริก

3.4 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคส วิธีฟีนอล-ซัลฟิวริก (Dobois, 1956)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
2. คิวเวตแก้ว
3. ปิเปต
4.

สาร

1.
2. เติมน้ำกลั่นอีก 95
3. ายในน้ำกลั่นปรับ 400ไมโครกรัมต่อ เต่อมิลลิลิตร ดังนี้

หลอดที่			าสมาตรฐาน มิลลิลิตร)
1			
2			
3	50	950	20
4	100	900	40
5	125	875	50
6	200	800	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการ

1. ปิเปตต์สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (ความเข้มข้น0-80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมฟีนอล 5% ลงไป 1 มิลลิลิตร

2. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ลงไปอย่างรวดเร็ว โดยปล่อยกรดลงที่ผิวหน้าของของเหลวโยตรงจะทำให้การผสมเกิดขึ้นได้ดีกว่าการค่อยๆ ปล่อยลงที่ข้างหลอด

3. ตั้งหลอดทดลองของสารผสมนี้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเขย่าและนำมาบ่มในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10-20 นาที

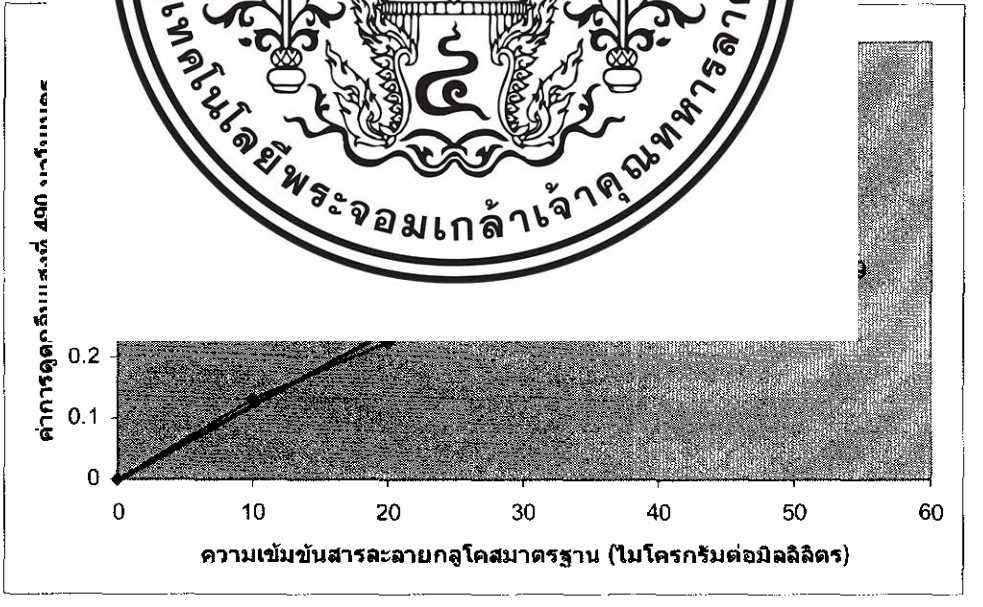
4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยถ้าเป็นน้ำตาลเฮกโซสวัดที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

5 องกลูโคสใน

สารละลายตั

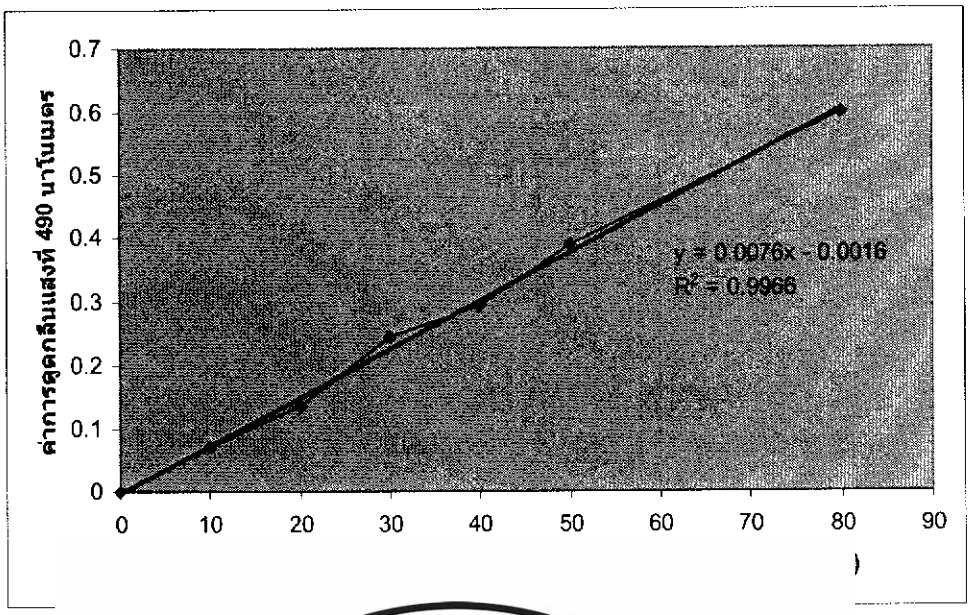
ความเข้มข้น เจาง)

(กรัมต่อ



รูปที่ 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

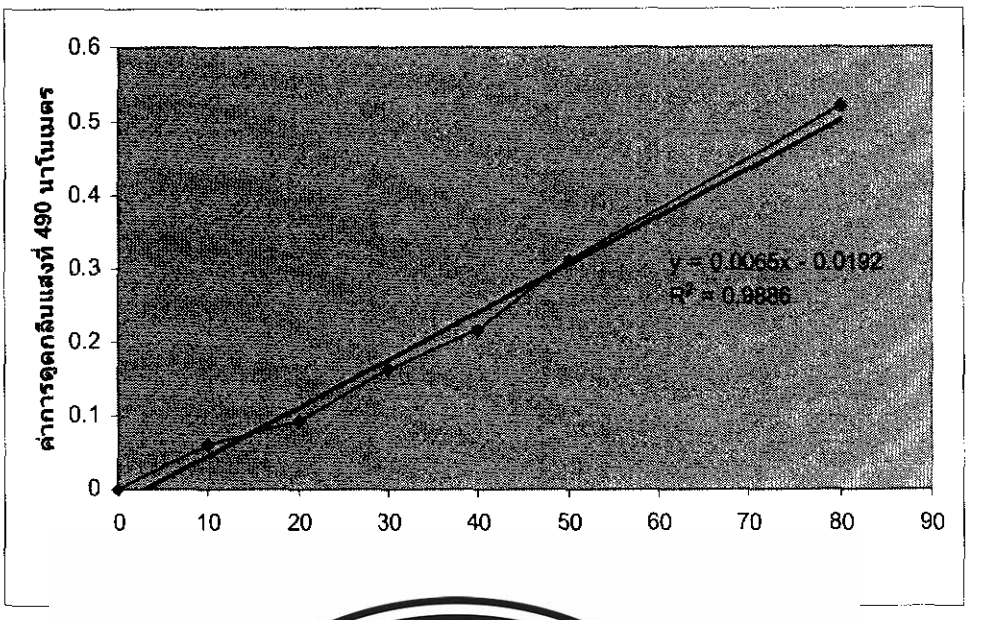
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 กราฟ

รูปที่ 3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลทราย

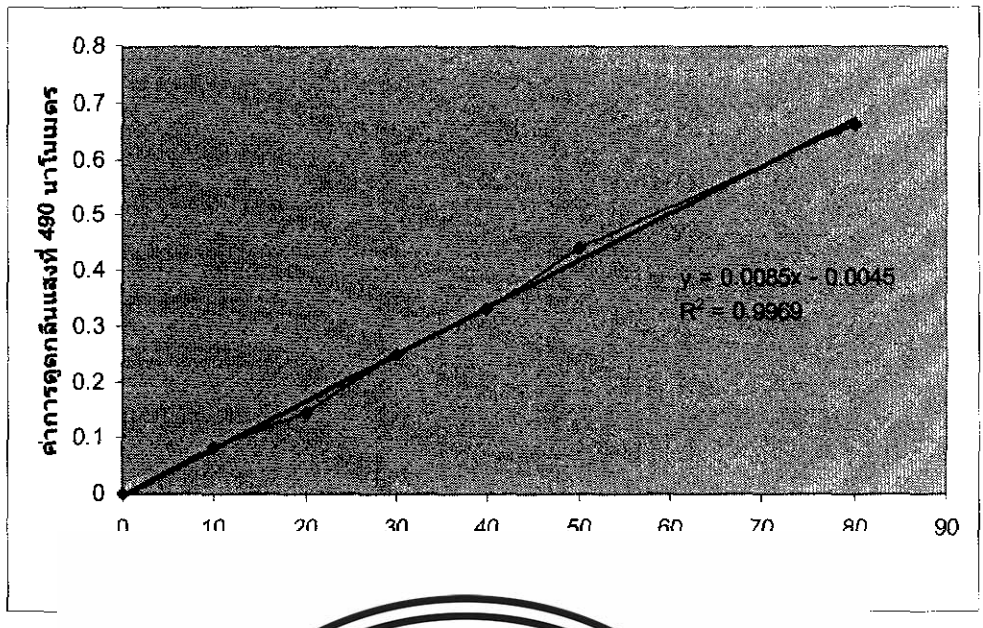
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4 กราฟ

รูปที่ 5 กราฟมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 6 กราฟ

2. น้ำหนักเ

วิธีการ

1. อน
2.
3. อยที่แช่แข็งเก็บไว้
4. ไปปั่นเหวี่ยงซ้ำอีก
5.
6. ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
7. คำนวณหาน้ำหนักเซลล์แห้งจาก

$$C_X \text{ (กรัม/ลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักหลอดทดลองและเซลล์แห้ง (กรัม)} - \text{น้ำหนักหลอดทดลอง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง (มิลลิลิตร)} \times 10^{-3}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรดด้วยเครื่อง HPLC

3.1 ขั้นตอนการเปิดเครื่อง HPLC

1. Power เครื่องทุกเครื่องของ HPLC
2. ยก Sinker ใส่ในขวดของ Mobile phase
3. เปิด Drain ของ Pump แล้วกดปุ่ม Purge ที่ Pump
4. ให้สังเกตว่าในสายของ Sinker มีฟองอากาศอยู่รึเปล่า ถ้ายังมีอยู่ให้กด Purge ทำงานจนกว่าฟองอากาศจะหมด
5. เมื่อฟองอากาศในสายของ Sinker ไม่มีแล้วให้รอจน Pump หยุดทำงานเอง หรือให้กด Purge เพื่อให้ Pump หยุดทำงาน
6. ปิด
7. ตั้ง nax ดูจาก Pressure ma
8. ตั้ง
9. ตั้ง
10. สั่

3.2 ขั้นตอน

1. ปิ
2. เท
3. เปิ
4. ยก ม่อยู่
5. รอ
6. ยก าดแล้วนำ Sinker จุ่มลงในขวดของ Mobile phase ใหม่
7. ในระหว่างขั้นตอนที่ 1-6 ถ้า Pump หยุดทำงาน ให้กดปุ่ม Purge อีกครั้ง
8. ให้สังเกตว่าสายของ Sinker มีฟองอากาศอยู่รึเปล่า ถ้ายังมีให้กด Purge ให้ Pumpทำงานจนกว่าฟองอากาศจะหมด
9. เมื่อฟองอากาศในสายของ Sinker ไม่มีแล้วให้รอจน Pump หยุดทำงานเองหรือให้กด Purge เพื่อให้ Pump หยุดทำงาน
10. ปิด Drain valve ที่ Pump แล้วสั่งให้ Pump ทำงานตาม Condition ที่ใช้ในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ : การเปลี่ยน Mobile phase ต้องคำนึงถึงด้วยว่า Mobile phase เก่าและใหม่เข้ากันหรือเปล่า ถ้าไม่สามารถเข้ากันเป็นเนื้อเดียวกันได้ต้องใช้สารอื่นเป็นตัวเชื่อมกลางโดย run mobile phase ตัวเชื่อมกลางอย่างน้อย 20 นาที

ตัวอย่าง 1.) Buffer Solution ⟶ น้ำกลั่น HPLC ⟶ Polar Original Solvent

2.) Non Polar Solvent ⟶ Iso-propanol Polar ⟶ Original Solvent

3.3 ขั้นตอนการ INJECT ตัวอย่าง

1. ตรวจดูให้แน่ใจว่า LC อยู่ในสถานะ Ready
2. ตรวจดูให้แน่ใจว่า Detector และ Autosampler อยู่ในสถานะ Ready
3. รอ
4. ถ้า
5. ถ้า ง Z
6. ทำ

6.1

T

ปิด injector ไปที่ตำแหน่ง LOAD

↓

ฉีด sample เข้าไปใน sample loop ของ injector

(ถ้าต้องการ fill sample ให้เต็ม loop ต้องฉีด sample มากกว่า valumn ของ loop ≥ 5 เท่า)

↓

เมื่อ HPLC system พร้อมให้บิด injector มาตำแหน่ง INJECT

(กรณีที่ไม่มี Auto-start ให้กดปุ่ม START ที่ C-R7)

↓

รอประมาณ 5-10 วินาที แล้วดึง syringe ออกจาก injector

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

↓

ล้าง needle port ด้วยน้ำกลั่น 5-10 มิลลิลิตร แล้วตามด้วยอากาศ 10-20 มิลลิลิตร โดยใช้ syringe พลาสติกขนาด 5-25 มิลลิลิตร ที่ต่อด้วย needle port cleaner

↓

ล้างด้วย syringe ที่ใช้ฉีด sample ด้วย solvent 20-30 ครั้ง

3.4 ขั้นตอนการปิดเครื่อง

1. หลังจาก inject sample สุดท้ายเสร็จแล้วให้ run mobile phase ต่ออีกประมาณ 30 นาที
2. สั่ง OFF pump
3. ปิด

หมายเหตุ : f

3.5 ขั้นตอ

1. Ru
2. Ru
3. ปิด

หมายเหตุ

1. กา ...งระวังการผสม

กันระหว่าง ... ...ามารถผสมเข้ากัน

ได้ดีต้องมี m

2. ก ...nn

ตัวอย่าง การ ...และ mobile phase

ที่เก็บ column เป็น 70% MeOH

Buffer solution 30 นาที

↓

น้ำกลั่น HPLC 30 นาที

↓

70% MeOH 30 นาที

↓

ปิดเครื่องตามขั้นตอนการปิดเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 ขั้นตอนการล้างเครื่องมือ (กรณีที่จะหยุดใช้เครื่องมากกว่า 1 เดือน)

1. Run Mobile Phase ที่ใช้งาน 30 นาที
2. Run Mobile Phase ที่ใช้เก็บ Column 1 ชม.
3. หยุด Pump แล้วถอด column ออกจากระบบแล้วต่อ pipe เปล่าแทนที่ และปิด column ด้วย plug ให้แน่น
4. เปลี่ยน mobile phase เป็น 70% MeOH แล้ว run เข้าระบบเป็นเวลา 30 นาที ถึง 1 ชั่วโมง
5. off pump แล้วปิดเครื่องทุก unit
6. ยก sinker ออกจากขวด mobile phase แล้วห่อด้วยวัสดุที่สะอาดเพื่อป้องกันฝุ่น

3.7 ขั้นตอ

1. กด[illegible] Power [illegible] C-R7A [illegible] Drive [illegible] System disk ใน Drive 1 และแผ่นเก็บข้อมูลใน Drive 2 ในกรณีที่มี Board สำหรับเชื่อม HPLC กับ C-R7A ให้ทำการเชื่อสัญญาณระหว่างเครื่องทั้งสองโดยพิมพ์ **OPEN TRS 7** และ **ENTER** หลังจากปรากฏหน้าจอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กด WIN 1จะปรากฏหน้าจอ Menu ของ WIN 1 เลือกหัวข้อ 2 แล้วตามด้วย **ENTER** จะปรากฏ

เลือก **L** เพื่อเรียก Analysis File ในกรณีเคยสร้าง File เก็บไว้

E ในกรณีที่ต้องการสร้าง Analysis File ใหม่หรือแก้ไข File ที่ถูกโหลดขึ้นมาใช้งาน

R ในกรณีที่ต้องการแก้ไขค่าบางค่าใน Analysis File ที่โหลดขึ้นมาใช้งานอยู่

A ในกรณีที่ต้องการให้มีการ Save อัตโนมัติ Analysis File กับทุก ๆ ครั้งของการฉีด

การสร้าง Analysis File ใหม่

- เลือก **E** จะปรากฏหน้าจอของ Analysis File
- แก้ไข Parameter ดังต่อไปนี้ WIDTH 5

- กด **EXI** กด **Y**

จะปราก

- กำหนด ว่ย **ENTER** เช่น

หลังจาก

3. ตั้ง [ER จะปรากฏ

A:auto-]

เลือก S เมื่อต้องการตั้งชื่อ File สำหรับ Save จะปรากฏ

Directory Part 1:

Chromatogram File [1: @CHRM1.C00] # of run (0 or 1~99) [] (0:serial)

กำหนด Drive และ File ตามด้วย " .C00" และ ENTER จำนวน Chromatogram ที่ต้องการ Save ในชื่อเดียวกันนี้ (สูงสุด 99) และ ENTER เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Directory Part 1:
Chromatogram File [1:test-unk.C00] # of run (0 or 1~99) [] (0:serial)

เลือก **R** เมื่อต้องการยกเลิกการตั้งชื่อข้างต้น

C ยกเลิกการ Save ของ Chromatogram สุดท้าย

A เมื่อต้องการให้เครื่อง Save อัตโนมัติในชื่อที่เครื่องกำหนด

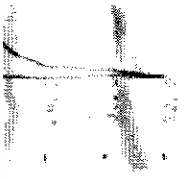
4. เลือกข้อ 1 จากหน้าจอ Menu ของ WIN1 จากนั้นรอสังเกตเห็นเส้น Baseline ค่อนข้างเรียบ จากนั้นทำการ Zero สัญญาณจาก Detector โดยปรับปุ่ม Zero ที่ Detector จนกว่าจะสามารถ Set 0 ที่ Detector ได้

5. ทำ ะใช้เวลาทดสอบ ประมาณ 10 Slope ที่ได้จะถูก Save ใน An

6. Me

7. เมื่ START ในกร สามารถขอดูค่า ต่าง ๆ ของเ **:LC Monitor** ตามด้วย EN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

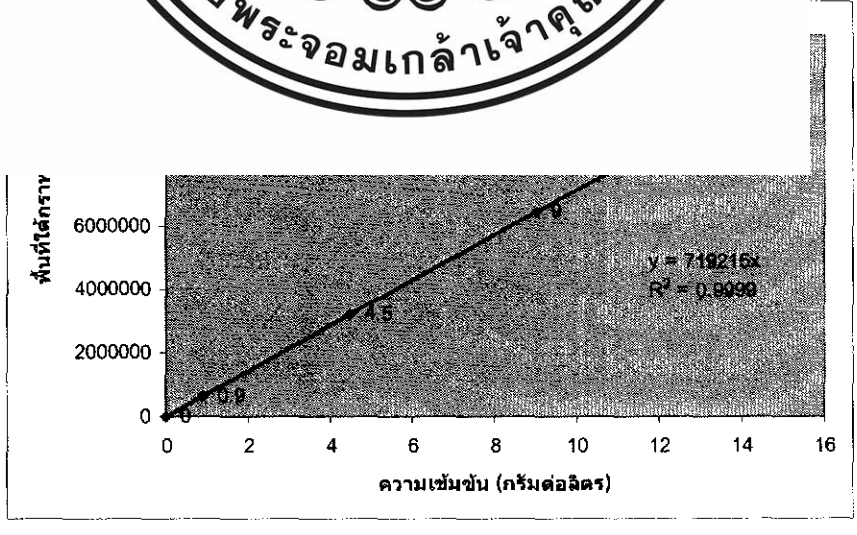


รูปที่ 7 โครม *bacillus casei*
ATCC 1086 tention time กับ
โครมาโทแก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.87-1

รูปที่ 8 โครม on time ของกรด
แลกติก เท่ากั



รูปที่ 9 กราฟมาตรฐานของกรดแลกติกที่ได้จากกรดแลกติกบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตางรางผลการทดลอง

1. ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก

ตารางที่1 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

ชั่วโมงที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร					
	กลูโคส	แลคโตส	น้ำตาลทราย	มอลโตส	ฟรุกโตส	ซูโครส
0						0.017
12						0.933
24						1.660
36						2.010
48						2.245
60						2.280
72						2.500
84						2.500
96						3.610

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่2 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)					
	กลูโคส	แลคโตส	น้ำตาลทราย	มอลโตส	ฟรุกโตส	ซูโครส
0	0.0124	0.1123	0.04258	0.0021	0.0871	0.0098
12	3.6982	2.5648	3.5112	2.2214	1.8996	1.7624
24	6.4521	4.0488	6.5104	4.8662	3.5482	3.8477
36	10.3346	6.4329	9.0786	6.8332	6.1240	5.9892
48	15.9023	9.6152	12.4265	9.4412	9.2015	8.4552
60						13.9863
72						15.4876
84						16.3322
96						10.9722

ตารางที่ 3 ... 10863 ในอาหาร สังเคราะห์ที่...

ชั่วโมงที่						ซูโครส
0						50
12						44.5785
24						41.6565
36						39.4425
48						35.2215
60	25.2121	26.1021	18.2663	22.6354	23.6645	25.6634
72	18.1338	21.8452	12.3802	16.4335	15.0573	24.2259
84	18.2042	14.2106	13.2561	16.0426	13.1254	15.7437
96	16.2068	14.0001	11.2066	15.4698	11.5364	15.1215

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4 ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน

ชั่วโมงที่	ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลง					
	กลูโคส	แลคโตส	น้ำตาลทราย	มอลโตส	ฟรุกโตส	ซูโครส
0	6.35	6.32	6.33	6.34	6.34	6.71
12	4.26	5.09	5.04	4.29	3.91	4.61
24	2.41	5.12	4.91	3.71	3.39	4.26
36	3.25	5.04	4.75	3.53	3.28	4.08
48	3.29	4.62	5.08	3.48	3.25	3.93
60						3.89
72						3.73
84						3.66
96						3.60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก

ตารางที่5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร			
	G_{20}	G_{30}	G_{40}	G_{50}
0	0.020	0.019	0.017	0.012
12	1.320	1.350	1.085	0.866
24	2.930	3.045	3.060	1.415
36	3.640	4.220	3.730	2.055

หมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่6 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณกรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)			
	G_{20}	G_{30}	G_{40}	G_{50}
0	0.0042	0.0041	0.0898	0.1895
12	2.0542	3.0564	4.0046	1.5951
24	3.5955	5.7684	7.8564	3.6679
36	5.2011	8.5038	11.9224	8.2102
48	6.8246	11.6958	16.4566	14.8417

หมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลง (กรัมต่อลิตร)			
	G_{20}	G_{30}	G_{40}	G_{50}
0	20	30	40	50
12	19.5115	26.2154	38.1365	45.2250
24	12.5810	24.2150	30.1458	38.6525
36	10.2560	19.0581	22.9874	30.8212
48	9.6518	19.5264	21.2016	28.1859

หมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่8 ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสและความเข้มข้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลง			
	G_{20}	G_{30}	G_{40}	G_{50}
0	6.74	6.87	6.90	6.89
12	4.47	4.48	4.40	4.40
24	3.74	3.75	3.73	3.80
36	3.43	3.42	3.42	3.55
48	3.29	3.31	3.33	3.46

หมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาการเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในระดับฟลาสก์เปรียบเทียบกับถังหมักขนาด 2 ลิตร

ตารางที่9 ค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรและน้ำหนักแห้งของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสมภายในฟลาสก์ชุดที่หนึ่ง

ชั่วโมงที่	ค่าการเจริญเติบโตของเซลล์ในฟลาสก์ชุดที่หนึ่ง	
	ค่าการดูดกลืนแสง ที่ 620 นาโนเมตร	น้ำหนังแห้ง
0	0.023	0.090
12	0.491	0.138

ตารางที่10 3 เลี้ยงในอาหาร สังเคราะห์ที่

ชั่วโมงที่			C
0			4.2595
24	4.0927	7.7172	13.3898
48	5.2267	9.3800	13.3784
72	7.5532	9.6462	15.2333
96	9.1623	13.3504	15.2725

หมายเหตุ

A คือ ไม่เติมแคลเซียมคาร์บอเนต บ่มเลี้ยงในฟราสก์ขนาด 2 ลิตร

B คือ เติมแคลเซียมคาบอร์เนต บ่มเลี้ยงในฟราสก์ขนาด 2 ลิตร

C คือ เติมแคลเซียมคาบอร์เนต บ่มเลี้ยงในถังหมักขนาด 2 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่11 ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสม

ชั่วโมงที่	ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลง		
	A	B	C
0	6.85	7.36	6.88
12	4.98	6.17	6.27
24	3.82	4.52	6.60
36	3.49	4.05	6.90
48	3.27	4.30	7.22
60			7.16
72			6.69
84			6.65
96			6.63

หม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่เหมาะสม

ชั่วโมงที่	ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลง (กรัมต่อลิตร)		
	A	B	C
0	40	40	40
12	34.58	36.76	37.42
24	32.76	35.78	32.22
36	32.4	32.06	29.64
48	32.1	27.56	20.42
60			20.36
72			20.04
84			19.94
96			18.78

หมายเหตุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

1. การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก

Oneway

ANOVA

Data

				Sig.
Betv				.000
With				
Tota				

Post Hoc Te

Homogeneo

		1	2
Maltose	3	15.4695	
Fructose	3	15.8707	
Lactose	3	16.2414	
Sucrose	3	16.3307	
Cane sugar	3		20.1668
Glucose	3		22.2489
Sig.		.503	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลก

Oneway

ANOVA

Data

	Sum of				g.
Betwe					.000
Within					
Total					

Post Hoc Test

Homogeneous

Glucose 40 g/L	3			25.3207
Sig.		1.000	.465	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพการผลิตกรดแลกติก ในฟลาสก์และถังหมักขนาด 2 ลิตร

Oneway

ANOVA

Data

	Sum of			Sig.
Bet				.001
Witl				
Tota				

Post Hoc Te

Homogeneo

Flask #2	3		13.3501
Fermentor	3		15.2708
Sig.		1.000	.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้