สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การปรับปรุงสมบัติของไหมสามด้วยวิธีการต่อกิ่งโดยใช้เมทิลเมทาคริเลท

นางสาวกุลนิภา กลิ่นทุม

นายบุญธรรม เสาม่น

นายผดุงพงษ์ ไผนาง

ปง.
T726ก
2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 107726
วัน,เดือน,ปี 1 ธ.ค. 2553

b 12210882
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชาเคมี

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Property modification of rough silk by grafting with methyl methacrylate (MMA)

Miss. Kulnipha Klintoom

Mr. Boontham Saomun

Mr. Phadungpong Phainarg

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Chemistry

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การปรับปรุงสมบัติของไหมสามโดยการต่อกิ่งด้วยเมทิลเมทาคริเลท			
นักศึกษา	นางสาวกุลนิภา	กลิ่นทุม	รหัสนักศึกษา	45050076
	นายบุญธรรม	เสามั่น	รหัสนักศึกษา	45050116
	นายผดุงพงษ์	ไผนาง	รหัสนักศึกษา	45050123
ภาควิชา	เคมี			
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. จุฑารัตน์ ปรัชญาวรากร			

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้ โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร.มาลินี ชัยศุภกิจสินธ์	.....
กรรมการ รศ.ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย	.....
กรรมการ ผศ.ดร.จุฑารัตน์ ปรัชญาวรากร	.....

.....

(ผศ.ดร.ประยงค์ ดวงดี)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การปรับปรุงสมบัติของไหมสามโดยการต่อกิ่งด้วยเมทิลเมทาคริเลท			
นักศึกษา	นางสาวกุลนิภา	กลิ่นทุม	รหัสนักศึกษา	45050076
	นายบุญธรรม	เสามั่น	รหัสนักศึกษา	45050116
	นายผดุงพงษ์	ไผนาง	รหัสนักศึกษา	45050123
ภาควิชา	เคมี			
สาขาวิชา	เคมีอุตสาหกรรม			
ปีการศึกษา	2548			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. จุฑารัตน์ ปรัชญาวรากร			

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เน้นการปรับปรุงสมบัติของเส้นใยไหมสามที่ได้จากด้านนอกของรังไหมด้วยวิธีการต่อกิ่งด้วยเมทิลเมทาคริเลท (Methyl methacrylate, MMA) โดยทำการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมในการลอกกาว จากนั้นจึงนำไหมที่ลอกกาวมาต่อกิ่งด้วยเมทิลเมทาคริเลทที่ความเข้มข้น 0.2 , 0.4 และ 0.8 โมล/ลิตร และทำการเปรียบเทียบสมบัติทางกายภาพ สมบัติทางเคมีและสัณฐานวิทยาระหว่างไหมลอกกาวและไหมที่ต่อกิ่ง จากผลการทดลองที่ได้พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการลอกกาว คือ อุณหภูมิ 80°C เวลาในการลอกกาว 30 นาที และเมื่อนำมาต่อกิ่งด้วยเมทิลเมทาคริเลท ที่ความเข้มข้น 0.2 , 0.4 และ 0.8 โมล/ลิตร ใช้เวลา 15, 30, 45, 60 และ 120 นาที พบว่าเวลาในการต่อกิ่งเพิ่มขึ้นทำให้สมบัติเชิงกลต่างๆ ไม่ต่างกันมาก จึงเลือกเวลา 15 นาที มาใช้ในการทดสอบสมบัติเชิงกล จากผลการทดลองพบว่า เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ค่ามอดุลัสและค่าแรงที่ใช้ในการดึง เพิ่มขึ้นแต่ค่าเปอร์เซ็นต์การดึงยืด ณ จุดขาดและเทนาซิตี้ลดลง นอกจากนั้นทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงหมู่ฟังก์ชันโดยใช้เทคนิคฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟาเรดสเปกโทรสโกปี และศึกษาสัณฐานวิทยาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 400 และ 1200 เท่า พบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น พื้นผิวของเส้นไหมมีลักษณะขรุขระมากขึ้น และจากการศึกษาสมบัติทางความร้อนของเส้นใยโดยใช้เทคนิคเทอร์มัลกราวิเมทริก พบว่าเส้นใยไหมที่ทำการต่อกิ่ง มีอุณหภูมิในการสลายตัวทางความร้อนที่สูงขึ้น สำหรับการวัดสีพบว่าเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น เส้นใยไหมต่อกิ่งที่ได้มีสีขาวขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Property modification of rough silk by grafting with methyl methacrylate (MMA)			
Name	**Miss. Kulnipha**	**Klintoom**	**ID**	**45050076**
	Mr. Boontham	**Saomun**	**ID**	**45050116**
	Mr. Phadungpong	**Phainarg**	**ID**	**45050123**
Department	Chemistry			
Program	**Industrial of Chemistry**			
Academic Year	2005			
Special Project Advisor	**Asst.Prof.Dr . Jutarat Prachayawarakorn**			

Abstract

This research was focused on property modification of rough silk, obtained from outer surface of silk cocoon, by grafting with methyl methacrylate (MMA). Different conditions for the degumming process were used, and then, the selected degummed silk was grafted by methyl methacrylate (MMA) with the concentrations of 0.2,0.4 and 0.8 mol/L Physical, chemical and morphological properties between the degummed and grafted silks were relatively compared. From the results, it was found that the best condition for the degumming process was 80°C and 30 min. When the silk grafted by MMA with the concentrations of 0.2,0.4 and 0.8 mol/L and times of 15, 30, 45, 60 and 120 min, it was found that when the grafting time was increased, the mechanical properties remained unchanged; therefore, the grafting time of 15 min was selected to test the mechanical properties.The results revealed that when the concentration was increased modulus and load were increased but % elongation and tenacity were decreased. Besides, the characteristic functionalities of grafted silks were evaluated by FTIR. In addition morphological properties was studied using scanning electron microscopy (SEM) at 400X and 1,200X , it was found that when the concentrations was increased, the surface of silk was more rough and the thermal properties of the grafted silks were studied using Thermogravimetric (TGA) , it was found that the grafted silks show the improvement of thermal decomposition temperature. For colour measurement, the increase in the concentration resulted in the whiter colour of the grafted silk.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษนี้สามารถสำเร็จลุล่วงด้วยดี เพราะได้รับความเอาใจใส่ ตลอดจนการชี้แนะและให้คำปรึกษาเป็นอย่างดีจากท่าน ผศ.ดร.จุฑารัตน์ ปรัชญาวรากร ซึ่งเป็นอาจารย์ผู้ควบคุมโครงงานพิเศษและเป็นผู้ตรวจสอบเนื้อหากับรูปเล่ม จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความเอาใจใส่และเสียสละเวลาของท่านสำหรับผู้ทำวิจัย

กราบขอบพระคุณท่าน รศ.ดร.มาลินี ชัยสุภกิจสินธ์ และ รศ.ดร.สมศักดิ์ วรมงคลชัย ที่เสียสละเวลาเพื่อเป็นกรรมการในการสอบ อีกทั้งช่วยตรวจแก้ไขและให้คำแนะนำ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่ให้ความรู้และคำแนะนำ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาเคมีคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในเรื่องการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

ขอขอบคุณ คุณกุลชล บุญสวัสดิ์ ที่คอยให้คำแนะนำและการช่วยเหลือในด้านต่างๆ มาโดยตลอดทำให้โครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอขอบคุณ พี่ๆ เพื่อนๆ ที่คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการทำโครงงานพิเศษนี้

นางสาวกุลนิภา กลิ่นทุม
นายบุญธรรม เสามั่น
นายผดุงพงษ์ ไผนาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

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

บทที่ 1 บทนำ
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 1
1.3 ขอบเขตของโครงงานพิเศษ 2
1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน 2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ
2.1 คุณสมบัติของกรดแลกติก 3
2.1.1 ความสำคัญของกรดแลกติก 3
2.1.2 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของกรดแลกติก 4
2.2 กระบวนการผลิตกรดแลกติก 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลกติก 22
2.4.1 แหล่งคาร์บอน 22
2.4.2 แหล่งไนโตรเจน 23
2.4.3 แหล่งแร่ธาตุ 32
2.4.4 อุณหภูมิ 24
2.4.5 ค่าความเป็นกรดด่าง (พีเอช) 25
2.6 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC 25

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย
3.1 อุปกรณ์ 30
3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย 30
3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 30
3.2 สารเคมี 31
3.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย 32
3.3.1เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในโครงงานพิเศษ 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.6 การวิเคราะห์ผล 35
3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ 36

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล
4.1 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก 39
โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863
4.2 การศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม 42
สำหรับการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863
4.3 ศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ 48
L.casei ATCC 10863ในระดับฟลาสก์และระดับถังหมักขนาด 2 ลิตร

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 57

เอกสารอ้างอิง 59
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี 62
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ 64
ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง 77
ภาคผนวก ง การวเคราะห์ทางสถิติ 87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 ผลของน้ำตาลกลูโคสที่มีค่าความเข้มข้นต่าง ๆ ต่อการผลิตกรดแลกติก 44
โดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863

4.3 ผลของการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863.....52
ที่ทำการหมักภายในฟลากส์ขนาด 2 ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการหมัก
ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 โครงสร้างทางเคมีของสารไดอะซิทิล 13
2.6 วิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติกของกลุ่ม 17
Obligately homofermentative lactobacilli
2.7 วิถี Embden-Meyerhof-Parnas (EMP) ในการผลิตกรดแลกติก..... 18
ของกลุ่ม heterofermentative lactobacilli
2.8 วิถีฟอสโฟกลูโคเนตของกลุ่ม Obligately heterofermentativelactobacill 19
2.9 ตัวอย่างเครื่อง HPLC ของ Shimadzu 26
4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 39
ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน
4.2 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 39
ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน
4.3 กราฟแสดงค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ทางสถิติ 40
ของการผลิตกรดแลกติกจากแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน
4.4 ปริมาณน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลง เมื่อเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863..... 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 การเปรียบเทียบอัตราการเปลี่ยนแปลงของค่าการเจริญเติบโต 47
ปริมาณกรดแลกติก(กรัมต่อลิตร) ปริมาณน้ำตาลที่เหลือและค่าพีเอช
ที่เกิดจากการหมักกรดแลกติกที่ความเข้มข้นกลูโคส 40 กรัมต่อลิตร
ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.5-7.0 ที่สภาวะนิ่ง
4.12 การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ในสภาวะที่เหมาะสม 50
ของแหล่งอาหาร ในรูปของค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร
และน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)
4.13 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่มีการเปลี่ยนแปลงโดยการเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 51
ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร
4.14 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช เมื่อเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 51
ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร
4.15 ปริมาณกรดแลกติกที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 53
ในสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหาร
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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

กรดแลกติกหรือกรดนมเป็นกรดอินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในอาหาร พบตามธรรมชาติในนม เปรี้ยว ผักดองชนิดต่าง ๆ เนยแข็ง เป็นต้น (Gardner, 1972) นิยมใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ที่มีความจำเป็นต่อวงการอุตสาหกรรมอาหารมากเพราะ กรดแลกติกที่เติมลงไปในอาหารนั้นจะเป็นตัวที่ช่วยเพิ่มกลิ่นและรสของอาหาร ช่วยควบคุมความเป็นกรดด่าง ยืดอายุการเก็บของอาหาร ช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์และการงอกของสปอร์ ช่วยเสริมประสิทธิภาพของสารป้องกันการหืนและปรับปรุงลักษณะของเนื้อผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เป็นต้น (ศิวาพร,2546) กรดแลกติกยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมสิ่งทอ เครื่องหนัง เวชภัณฑ์ โลชั่น อุตสาหกรรมการทำพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (biodegradable plasties) (Fitzpatrick,2003)

กรดแลกติกสามารถผลิตได้ทั้งกระบวนการทางเคมีและกระบวนการทางชีวภาพ ในการผลิตกรดแลกติกโดยใช้วิธีทางเคมีเป็นวิธีที่ใช้ค่าใช้จ่ายสูงและมีความยุ่งยากในช่วงการทำให้บริสุทธิ์ ส่วนกระบวนการทางชีวภาพสามารถผลิตกรดแลกติกโดยใช้โฮโมแลกติกแอซิดแบคทีเรียเนื่องจากการผลิตกรดแลกติกสามารถใช้สารตั้งต้นร่วมกับโฮโมแลกติกแอซิดแบคทีเรียได้หลายชนิด จึงได้มีการศึกษาหาวิธีที่สามารถผลิตกรดแลกติกได้ในปริมาณมากและเสียค่าใช้จ่ายในการลงทุนต่ำ นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงกระบวนการการผลิตให้มีประสิทธิภาพภายใต้สภาวะและองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสม (senthuran และคณะ,1999)

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้เป็นแนวทางในการคิดค้นสูตรอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก โดยศึกษาจากผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่าง ๆ เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลกโตส น้ำตาลทราย น้ำตาลฟลุคโตส น้ำตาลมอลโตส และน้ำตาลซูโครส อีกทั้งปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 โดยการใช้อาหารสังเคราะห์ในการผลิตเพื่อเป็นแนวทางในการหาแหล่งคาร์บอนที่ดีและเหมาะสมสำหรับการเพิ่มผลผลิตของกรดแลกติกโดยกระบวนการทางชีวภาพ

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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 ที่นำมาทดลองทั้งก่อนและหลังทำการหมัก

1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

1.4.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการวิจัย

1.5.1.1 การเก็บรักษาเชื้อที่ใช้ในการวิจัย

1.5.1.2 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

1.4.2 การศึกษาสภาวะต่าง ๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลกติก

1.5.2.1 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะต่อการผลิตกรดแลกติก

1.5.2.2 การศึกษาปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอน

1.5.2.3 การศึกษาเปรียบเทียบศักยภาพในการผลิตกรดแลกติกที่ใช้แหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นที่เหมาะสม ในระดับฟลาสก์และระดับถังหมักขนาด 2 ลิตร

1.4.3 การวิเคราะห์ผล

1.4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของอิเล็กโทรไลต์ช่วย และสารละลายเคลื่อนที่ที่ใช้ในเทคนิคทางไซคลิกโวลเทมเมทรี เพื่อใช้ในการตรวจวัดยาปฏิชีวนะคีตาซาไมซิน (Kitasamycin)

3. ศึกษาการนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนเพื่อใช้ในการตรวจวัดยาปฏิชีวนะคีตาซาไมซิน (Kitasamycin) โดยใช้เทคนิคทางแอมเพอโรเมทรีในระบบฉีดไหลต่อเนื่อง

1.4 คำจำกัดความ

ยาปฏิชีวนะคีตาซาไมซิน (Kitasamycin) เป็นยาปฏิชีวนะในกลุ่ม macrolide ใช้สำหรับสัตว์ปีกและสุกร

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำขั้วไฟฟ้าชนิดฟิล์มบางเพชรเจือโบรอนมาประยุกต์ใช้ในงานวิเคราะห์ทางเคมีไฟฟ้าได้

2. สามารถวิเคราะห์หาปริมาณของยาปฏิชีวนะคีตาซาไมซิน โดยใช้เซลล์เคมีไฟฟ้าที่ใช้วัสดุภายในประเทศ ราคาถูก ใช้งานง่าย สะดวก และใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์สั้น

3. เพื่อเป็นข้อมูลอ้างอิงของการนำขั้วไฟฟ้าฟิล์มบางเพชรเจือโบรอน และเซลล์เคมีไฟฟ้ามาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ยาในกลุ่มต่าง ๆ ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการ

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์กับเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) การหาน้ำตาลกลูโคส ดูในภาคผนวก

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HACH รุ่น DR/4000

เครื่อง High Performance Liquid Chromatography ของบริษัท Shimadzu

รุ่น C-R7 Ao plas

ถังหมักขนาด 2 ลิตร

เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) รุ่น Falcon 6/300

เครื่องนึ่งความดันไอ(Autoclave) ของบริษัท Hirayama รุ่น HA-300 HIV

เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ของบริษัท SHIMAZU รุ่น LIBROR EB-40000H

เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius analytic รุ่น A 200S

ตู้เย็นอุณหภูมิ -83 องศาเซลเซียส ของบริษัท SANYO รุ่น MDF-U 4086S

ตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ของบริษัท SANYO

เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของบริษัท Denver Instrument รุ่น Model 215

เครื่องอบรมลมร้อน ของบริษัท Binder

ตู้บ่มปลอดเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ของบริษัท Gallenkamp

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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เพราะได้รับความอนุเคราะห์จาก อาจารย์ปิยะ ศุภวราสุวัฒน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ และ อาจารย์สุระชัย พิมพ์สาลีอาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ร่วม รวมทั้งอาจารย์ประจำภาควิชาครุศาสตร์วิศวกรรมทุกๆ ท่านที่กรุณาให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะและวิธีการแก้ปัญหาในการทำงาน ตลอดจนถึงข้อมูลและอุปกรณ์ที่เป็นประโยชน์ต่อการทดลองโครงงาน และในการจัดทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ ขอขอบคุณห้องสมุดคณะครุศาสตร์อุสาหกรรม และสำนักหอสมุดกลางที่ช่วยอำนวยความสะดวกและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการค้นคว้าข้อมูล

ขอกราบขอบพระคุณ กำลังใจอันยิ่งใหญ่ของ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยให้ความสนับสนุนทุกสิ่งทุกอย่างทางด้านการศึกษาทางด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์ในการทำปริญญานิพนธ์ครั้งนี้ ขอขอบคุณพี่วีณา ยอดพิจิตร และเพื่อนๆ ทุกท่านที่ให้คำปรึกษาแนะนำและร่วมเป็นกำลังใจในการทำปริญญานิพนธ์ ซึ่งในโอกาสนี้คณะผู้จัดทำจึงขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งมา ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 10863 ในอาหารสังเคราะห์ที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นองค์ประกอบที่ต่างกัน 6 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลคโตส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลฟรุกโตส และน้ำตาลทราย พบว่าน้ำตาลกลูโคสให้ผลผลิตกรดแลกติกในปริมาณสูงที่สุดคือ สูงสุด คือ 22.247 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ (yield) และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.698 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.3090 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับ Bulut และคณะ (2004) ที่ศึกษาเรื่องการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดในการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุเหลือใช้จากธรรมชาติภาย ใต้เงื่อนไขเดียวกัน รองลงมาคือแหล่งคาร์บอนที่ใช้น้ำตาลทรายผลิตกรดได้ 20.020 กรัมต่อลิตร ณ ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.532 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.278 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และเมื่อนำค่าที่ได้มาทำการเปรียบเทียบทางสถิติเพื่อดูความแตกต่าง พบว่าผลของกรดแลกติกที่ได้จากการใช้กลูโคส มีความแตกต่างกันกับการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ยกเว้นน้ำตาลทราย แต่เนื่องจากการทดลองพบว่า น้ำตาลกลูโคสให้ผลที่สูงที่สุดในการนำมาเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตกรดแลกติก โดยเชื้อ *L. casei* ATCC 10863 ดังนั้นจึงเลือกน้ำตาลกลูโคสนำมาศึกษาถึงระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตกรดแลกติก โดยใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 20, 30, 40 และ 50 กรัมต่อลิตร พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 40 กรัมต่อลิตร ผลิตกรดแลกติกได้ 25.322 กรัมต่อลิตร ชั่วโมงที่ 72 คำนวณเป็นผลได้ และอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ได้เท่ากับ 0.984 กรัมต่อกรัมน้ำตาล และ 0.352 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ผลิตกรดแลกติกได้สูงสุดจากทุกความเข้มข้น

ดังนั้นเมื่อทำการทดลองเสร็จสิ้นในขั้นต้น เราสามารถสรุปได้ว่า การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ระดับความเข้มข้น 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% จากการทดลองพบว่า เมื่อเราทำการทดลองผ่านไปโดยให้ทำการหมักในฟลาสก์ 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ไม่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 9.162 กรัมต่อลิตร แบบที่ 2 เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ได้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 13.350 กรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับในถังหมักที่มีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 กลายเป็นผลึกของแคลเซียมแลคเตทได้ยาก ทำให้การสกัดสารละลายแลคเตทได้ยากตามไปด้วย (Ohkouchi และ Inoue, 2006)

ดังนั้นในการศึกษาเรื่องแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลกติกโดยเชื้อ *L. casei* ครั้งต่อไป พอจะใช้งานทดลองนี้เป็นแนวในการการเริ่มต้นการศึกษาเรื่องความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน คือ ควรเริ่มต้นที่ 40-50 กรัมต่อลิตร และพบว่าเชื้อที่เจริญในถังหมัก จะมีช่วงเวลาของการผลิตสารเพื่อให้ได้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดมากกว่า ดังนั้นจึงเห็นว่าการผลิตกรดแลคติกในถังหมักขนาด 2 ลิตร มีประโยชน์ใช้เป็นแนวทางในการผลิตกรดแลคติกในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์

1.1 อาหารเหลว (MRS broth) ประกอบด้วย

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

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. นำอาหารและสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่ได้มาเทรวมกันภายใต้สภาวะปลอดเชื้อก่อนนำไปใช้งาน

1.2 อาหารแข็ง (MRS agar) ประกอบด้วย

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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ชลัท ศานติวรางคณา. 2534. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเครื่องดื่มจากเวย์ ปัญหาพิเศษ ภาควิชาอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 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. การเจริญและการสร้างสารให้กลิ่นรสของแบคทีเรียแลคติกในหางนมจากเนยแข็ง การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 28 กรุงเทพฯ. 565.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2532. เอกสารประกอบการสอนวิชาปฏิบัติการนมและผลิตภัณฑ์นม ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ศิวาพร ศิวเวชช. 2546. วัตถุเจือปนอาหาร เล่ม 1. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ

ศูนย์พัฒนาฝึกอบรมและวิจัยด้านโคนมแห่งชาติ. 2526. การผลิตผลิตภัณฑ์นมและการจัดการเอกสารการฝึกอบรมเกี่ยวกับเทคโนโลยีอาหารนม ชุดที่ 3 สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์. เชียงใหม่. 262.

Bulut, S. Elibol, M. Ozer, Dursum. 2004. Effect of different carbon sources on L(+) –lactic acid production by *Rhizopus oryzae*. *Biochemical Engineering Journal* (21) :33-37.

Dailey, O. D., Dowd, M.K. and Mayorga, J.C. 2000. Influences of lactic acid on the solubilization of protein during steeping. *J. Agric Food Chem.*(48) :1352-1357.

Food and Druc Administration.1998. 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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 Suzana, W. 2006. Effect of sodium alginate concentration, bead diameter, initial pH and temperature on lactic acid production from pineapple waste using immobilized *L. delbrueckii*. *Process Biochemistry* (41) :1117-1123.

Kadam, S. R. Patil, SS. Bastawde, KB. Khire, J. M. and Gokhale, D.V. 2006. Strain improvement of *Lactobacillus delbrueckii* NCIM 2365 for lactic acid production. *Process Biochemistry* (41) :120-126.

Kulozik, U. and Wilde, J. 1999. Rapid lactic acid production high cell concentrations in whey ultrafiltration by *Lactobacillus helveticus*. *Enzyme and Microbial Technology* (24) :297-302.

Muller, V. 2001. Bacterial fermentation. Encyclopedia of life Science : 1-7.

Nancib, N. Nancib, A. Boudjelal, A. Benslimane, C. Blanchard, F. Boudrant, J. 2001. The effect of supplementation by different nitrogen source on the production of lactic acid a from date juice by *Lactobacillus casei* subsp.*rhamnosus*. *Bioresource Technology* (78) : 149-153.

Nancib, A. Nancib, N. Meziane Cherif, D. Boubendir, A.Fick, M. Boudrant, J. O, Seph. 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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น 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.Wright, A.V. and Ouwehand, A.1998. Lactic acid Bacteria Microbiological and Functional Aspects. 2nd ed. New York:Marcel dekker.

Senthuran, A.Senthuran, V. Hatti-Kaul, R. Mattiasson, B. 1999. Lactic acid production by Immobilized *Lactobacillus casei* in recycle batch reator : a step towards optimization. *Journal of Biotechnology* (73) :61-70.

Sodergard, A. and Stolt, Milael.2002. Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition. *Prog. Polym.Sci* (27) : 1123-1163.

Tanaka, T. Hoshina, M. Tanabe, S. Sakai, K. Ohtsubo, S. and Taniguchi, M. 2006. Prodution of D-latic acid from defatted rice bran by simultaneous saccharification and fermentation. *Bioresource Technology* (97) : 211-217.

www.raritanval.edu/departments/science/molecules.html

www.technica.net/NF/NF3/biodegradable.htm

www.brighton73.freeserve.co.uk/.../phd-intr.htm

www.genome.jgi-psf.org/draft_microbes/lacca/lacca.home.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้