ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp.

ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING LACTIC ACID PRODUCTION OF *Lactobacillus* sp.

กรองจิตต์ ช้างแก้ว

KRONGJIT CHANSKAW

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2541

ISBN 974-622-345-1

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp.

ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING LACTIC ACID PRODUCTION OF *Lactobacillus* sp.

T031943

กรองจิตต์ ช้างแก้ว

KRONGJIT CHANGKAW

T031943

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2541

ISBN 974-622-346-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยน 31943
น, ปี 14 ส.ค. 2542

ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING LACTIC ACID PRODUCTION OF *Lactobacillus* sp.

KRONGJIT CHANGKAW

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE PROGRAME IN BIOTECHNOLOGY

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการ
ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1998

ISBN 974-622-346-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 1998

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp.

ENVIRONMENTAL FACTORS INFLUENCING LACTIC ACID PRODUCTION OF *Lactobacillus* sp.

ชื่อนักศึกษา นางสาวกรองจิตต์ ช้างแก้ว **รหัสประจำตัว** 38064207

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ดร.เยาวพา บุญปู่

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์	
ดร.เยาวพา บุญปู่	
ผศ.อรไท สุขเจริญ	
ผศ.ฉัฐดา วิโรจน์แสงอรุณ	

ค่าระดับคะแนนที่ผ่านเป็นเอกฉันท์จากคณะกรรมการ GOOD

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 16 พฤศจิกายน 2541 **เวลา** 13.00 น. **เป็นต้นไป**

สถานที่สอบ ณ ห้อง 424 ห้องประชุม-สัมมนา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.มนัส สังวรศิลป์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 21 **เดือน** ธันวาคม **พ.ศ.** 2541

หมายเหตุ การวัดผลวิทยานิพนธ์ให้ใช้ค่าระดับคะแนนดังนี้

ค่าระดับคะแนน	ผลการศึกษา	
O	Outstanding	(ดีเยี่ยม)
G	Good	(ดี)
P	Pass	(ผ่าน)
F	Fail	(ไม่ผ่าน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดแลคติก โดยเชื้อ ***Lactobacillus* sp.**
นักศึกษา	นางสาวกรองจิตต์ ช้างแก้ว
รหัสประจำตัว	38064207
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2541
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. ดุษณี ธนะบริพัฒน์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. เยาวพา บุญปู่

บทคัดย่อ

การทดลองนี้เป็นการศึกษาถึงปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการผลิตกรดแลคติก โดยระดับฟลาสก์ได้ทำการเปรียบเทียบ เชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร 6 ชนิด คือ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS, MEA, GYP และ GYP-$CaCO_3$ ในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า พบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกคือ สภาวะนิ่ง เพราะให้ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารอาหารเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) สูงกว่าสภาวะเขย่า และสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MRS สำเร็จรูป หรือ MRS สูตรดัดแปลง เพราะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่เลือกใช้อาหาร MRS สูตรดัดแปลง เพราะมีราคาถูกกว่าและเลือกเชื้อ *L. casei* subsp. *rhamnosus* เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่า *L. delbrueckii* เมื่อนำเชื้อ *L. casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงที่สภาวะนิ่ง โดยมีการปรับความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารเป็น 1, 2, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ 5 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีความแตกต่างกันทางสถิติจากความเข้มข้นอื่นและให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 1.41 ต่อชั่วโมง และ 0.81 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่ระดับความเข้มข้นอื่น

เมื่อนำ *L. casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในระดับถังหมักเพื่อศึกษาผลของปริมาณอากาศ อุณหภูมิ และสภาวะของพีเอช พบว่าปริมาณอากาศ (O_2) ที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือ 0 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงสุดคือ 0.55 ต่อชั่วโมง และ 0.69 กรัมต่อกรัมตามลำดับ สำหรับอุณหภูมิในถังหมักที่เหมาะสมคือ 37 องศาเซลเซียส ให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 0.55 ต่อชั่วโมง และ 0.69 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่ 45 องศาเซลเซียส และสภาวะที่มีการควบคุมพีเอชจะเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 0.62 ต่อชั่วโมงและ 1.24 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสภาวะที่ไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Environmental Factors Influencing Lactic Acid Production of *Lactobacillus* sp.
Student	Krongjit Changkaw
Student ID.	38064207
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	1998
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat
Thesis Co-advisor	Dr. Yorwapa Boonpooh

ABSTRACT

Environmental factors influencing production of lactic acid were investigated in this study. The influences of MRS, modified MRS, GS, MEA, GYP and GYP-$CaCO_3$ media on growth of *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* and *Lactobacillus delbrueckii* were determined in both shake flask and static cultures. The result showed that static cultures gave higher maximum specific growth rate (μ_{max}) and lactic acid yield ($Y_{p/s}$) than shake flasks. The suitable media were MRS or modified MRS because there was no significant difference between these media. The modified MRS was selected for further study because of low cost and *L. casei* subsp. *rhamnosus* was selected because it gave higher μ_{max} and $Y_{p/s}$ than *L. delbrueckii*.

The cultivation of *L. casei* subsp. *rhamnosus* at various initial glucose concentrations of 1, 2, 5, 7 and 10% was determined and it was found that the glucose concentration of 5% gave higher μ_{max} and $Y_{p/s}$ (1.41 h^{-1} and 0.81 $g.g^{-1}$) than other glucose concentrations with significant difference.

The influences of dissolve oxygen, temperature and pH on growth of *L. casei* subsp. *rhamnosus* were dertermined in batch cultures. The result showed that the suitable dissolve oxygen was o% which gave higher μ_{max} and $Y_{p/s}$ (0.55 h^{-1} and 0.69 $g.g^{-1}$) than other concentration. The optimum temperature was at 37 °C because of higher μ_{max} and $Y_{p/s}$ (0.55 h^{-1} and 0.69 $g.g^{-1}$) than at 45 °C and the controlled pH gave higher μ_{max} and $Y_{p/s}$ (0.62 h^{-1} and 1.24 $g.g^{-1}$) than the uncontrolled pH.

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามมิให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยินยอมให้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เพราะได้รับคำแนะนำและการตรวจแก้ไขจากผู้ทรงคุณวุฒิหลายท่าน ในการนี้ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณ รศ.ดร.ดุษณี ธนะบริพัฒน์ ที่ได้ให้คำปรึกษาชี้แนวทางในการแก้ไขปัญหา ตลอดจนให้ความสบายใจแก่ผู้วิจัยในขณะที่ดำเนินการทดลอง นอกจากนี้ท่านยังได้กรุณาตรวจด้านภาษาและเนื้อหาให้ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณดร.เยาวพา บุญปู่ ที่ได้ให้ความเอาใจใส่ในการทำการศึกษาและให้ความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆเป็นอย่างดียิ่ง ขอขอบคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่กรุณาให้คำแนะนำและชี้แนะแนวทางที่เป็นประโยชน์ในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณ ผศ. วรารัตน์ เรืองรัตนเมธี ที่ช่วยตรวจผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขอขอบคุณองค์การเภสัชกรรม สถาบันวิจัยและพัฒนาที่ให้ความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ และขอขอบคุณ นางสาว วิมลมาศ บุญมี และนางสาวสุภาวดี ศรีแย้ม ที่ช่วยเหลือในด้านการถ่ายภาพ ตลอดจนบิดามารดาที่ได้ช่วยเหลือและให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดมาจนวิทยานิพนธ์นี้เสร็จสมบูรณ์ลงด้วยดี จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านเป็นอย่างสูง

กรองจิตต์ ช้างแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....IV

สารบัญ.....V

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ..... XV

บทที่1 บทนำ..... 1

1.1 ที่มาของงานวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 1

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่2 ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ประวัติความเป็นมาของการผลิตกรดแลคติก..... 3

2.2 ลักษณะโครงสร้างของกรดแลคติก..... 4

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก..... 7

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติก..... 9

2.5 การหมักกรดแลคติก.....11

2.6 การหมักในอาหารเหลวแบบแบช.....15

2.7 ถังหมักที่ใช้สำหรับการหมักในอาหารเหลว.....22

2.8 ความสำคัญของกรดแลคติกต่อระบบอุตสาหกรรม..... 28

บทที่3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....30

3.1 เชื้อแบคทีเรีย.....30

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์..... 30

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 31

3.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย.....31

3.3.2 การศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในระดับฟลาสก์.....31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3.2.1 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร 6 ชนิด.....31

3.3.2.2 การหาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ..... 32

3.3.3 การศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกที่เหมาะสมในระดับถังหมักแบบแบช.....32

3.3.3.1 ขั้นตอนการเตรียมถังหมัก.....32

3.3.3.2 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ(O_2) ในระดับ 0 , 5 , 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์..... 32

3.3.3.3 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีอุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส..... 33

3.3.3.4 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีการควบคุม และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 33

3.4 การวิเคราะห์ 34

3.4.1 การวิเคราะห์หาค่า μ_{max} 34

3.4.2 การวิเคราะห์หาค่า $Y_{X/S}$ และ $Y_{P/S}$.....34

3.4.3 การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์.....35

3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดโดยวิธีไทเทรต.....35

3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกโดยวิธี Baker 35

3.4.6 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส..... 36

3.4.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด(μ_{max}) และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)..... 36

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 37

4.1 ผลของการศึกษารูปร่างและลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* และ *Lactobacillus. casei* subsp. *rhamnosus*..... 37

4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิต กรดแลคติกในระดับฟลาสก์..... 39

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

Lactobacillus casei subsp. *rhamnosus* ในอาหารชนิดต่างๆที่มี
สภาวะนิ่งและเขย่า 39
4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ
Lactobacillus delbrueckii ในอาหารต่างๆที่มี
สภาวะนิ่งและเขย่า 56
4.2.3 ผลการศึกษาหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูโคสต่อการเจริญของ
เชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* 79
4.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในระดับถังหมักแบบแบช.....94
4.3.1 ผลการศึกษาหาปริมาณอากาศ (O_2) ที่เหมาะสมในถังหมัก.....94
4.3.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมัก
ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส..... 110
4.3.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมัก
ที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช 116

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์.....122

บรรณานุกรม..... 125

ภาคผนวก.....129
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อ.....130
ข. การเตรียมสารเคมี.....132
ค. ถังหมัก.....133
ง. กราฟมาตราฐาน.....138

ประวัติผู้เขียน.....140

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงรูปแบบของกรดแลคติกที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 6

4.1 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารMRSสำเร็จรูป แบบสภาวะนิ่ง.....41

4.2 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง แบบสภาวะนิ่ง.....42

4.3 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS แบบสภาวะนิ่ง.....43

4.4 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA แบบสภาวะนิ่ง.....44

4.5 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP แบบสภาวะนิ่ง.....45

4.6 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ แบบสภาวะนิ่ง.....46

4.7 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในสภาวะนิ่ง..... 47

4.8 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที.....49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.9 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 50

4.10 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 51

4.11 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEAสภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 52

4.12 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 53

4.13 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 54

4.14 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในสภาวะเขย่า..... 55

4.15 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRSสำเร็จรูป สภาวะนิ่ง..... 57

4.16 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRSสูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง..... 58

4.17 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง..... 59

4.18 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง..... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.19 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง..... 61

4.20 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง..... 62

4.21 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่ง..... 63

4.22 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 65

4.23 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 66

4.24 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 67

4.25 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 68

4.26 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 69

4.27 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที..... 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.28 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะเขย่า..... 71

4.29 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆที่สภาวะนิ่งและเขย่า.....73

4.30 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่งและเขย่า..... 74

4.31 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆ..... 74

4.32 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* 75

4.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆที่สภาวะนิ่ง และเขย่า.....76

4.34 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่ง และเขย่า..... 77

4.35 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆ..... 77

4.36 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii*..... 78

4.37 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงที่กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง.....81

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ไม่สงวนสิทธิ์ในการใช้ประโยชน์ด้านการค้า

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.38น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดักฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 83

4.39 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดักฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 85

4.40 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดักฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 7 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 87

4.41 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดักฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 10 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 89

4.42 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคสระดับต่าง ๆ ที่สภาวะนิ่ง..... 91

4.43 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่ กลูโคส ระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง..... 91

4.44 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคสระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง..... 92

4.45 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารMRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่าง ๆ ที่สภาวะนิ่ง..... 92

4.46 ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่าง ๆ ที่สภาวะนิ่ง..... 93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.47 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 95

4.48 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 98

4.49 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 101

4.50 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 20 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 104

4.51 ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ37องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 107

4.52 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการควบคุมพีเอช 107

4.53 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช 109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.54 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 109

4.55 ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถัง หมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 109

4.56 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 111

4.57 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็น เซลล์($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 และ 4 5 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 114

4.58 การทดสอบค่าทีของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 และ 4 5 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 114

4.59 การทดสอบค่าทีของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็น ผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 และ 4 5 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช..... 115

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.60 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอช..... 117

4.61 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช..... 120

4.62 การทดสอบค่าทีของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมัก ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช.....120

4.63 การทดสอบค่าทีของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็น ผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารMRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช..... 121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 สูตรโครงสร้างกรดแลคติกรูป L (+)..... 5

2.2 สูตรโครงสร้างกรดแลคติกรูป D (-)..... 5

2.3 จลนพลศาสตร์ (kinetics) ของการสร้างสารจากกระบวนการสร้างและสลายปฐมภูมิ ที่สัมพันธ์กับการเจริญของเซลล์..... 12

2.4 แสดงวิถีของการหมักกรดแลคติกแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ และแบบ เฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ.....14

2.5 กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ในการหมักแบบแบช.....16

2.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln X กับ เวลา.....18

2.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) กับปริมาณ ความเข้มข้นของสารอาหาร (S) 19

2.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 1 / [S] กับ 1 / μ 20

4.1 ลักษณะของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS agar.....38

4.2 ลักษณะของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS agar.....38

4.3 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง.....41

4.4 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง.....42

4.5 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง.....43

4.6 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง..... 44

4.7 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง..... 45

4.8 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง.....46

4.9 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า.....49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.10 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า.....50
4.11 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า.....51
4.12 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่า.....52
4.13 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า.....53
4.14 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่า..... 54
4.15 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง.....57
4.16 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง.....58
4.17 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง.....59
4.18 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง.....60
4.19 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง.....61
4.20 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง..... 62
4.21 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า.....65
4.22 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า..... 66
4.23 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า.....67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.24 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่า..... 68

4.25 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า.....69

4.26 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP- $CaCO_3$ สภาวะเขย่า.....70

4.27 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 82

4.28 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 84

4.29 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 86

4.30 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 7 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 88

4.31 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 10 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง..... 90

4.32 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช.....97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.33 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการควบคุมพีเอช..... 100

4.34 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการควบคุมพีเอช..... 103

4.35 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 20 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการควบคุมพีเอช..... 106

4.36 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และ ไม่มีการควบคุมพีเอช..... 113

4.37 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอช.....119

ค-1 แสดงลักษณะและส่วนประกอบของถังหมัก.....135

ค-2 แสดงลักษณะและส่วนประกอบส่วนบนของถังหมัก.....136

ค-3 ลักษณะและส่วนประกอบของถังหมักที่ใช้ในการทดลอง.....137

ง-1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกูลโคสทั้งหมด.....138

ง-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแลคติกทั้งหมด.....139

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของงานวิจัย

กรดแลคติกส่วนมากจะใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่นใช้ในกระบวนการหมักดอง ใช้เป็นวัตถุกันเสียและทำให้เกิดรสเปรี้ยว นอกจากนี้ยังใช้ในด้านอุตสาหกรรมการปรุงยา เครื่องสำอาง และในอุตสาหกรรมการย่อยสลายพลาสติก โดยส่วนมากกรดแลคติกจะถูกผลิตโดยกระบวนการหมัก ส่วนที่เหลือจะถูกผลิตโดยการสังเคราะห์ทางเคมี (Siebold และ คณะ,1995) การผลิตกรดแลคติกโดยกระบวนการหมักนั้นจะมีการใช้เชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ ที่ได้ทำการแยกและพัฒนาซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกได้หรือที่เรียกว่า Lactic Acid Bacteria (LAB) (Venus และ คณะ,1992 ; Tsai และ Coleman,1993) ซึ่งมีลักษณะเป็นท่อน ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศและให้ผลผลิตหลักคือกรดแลคติก โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ต่างๆ นั้นมีความสามารถในการผลิตกรดแลคติกแตกต่างกันไป ทั้งในแง่ปริมาณและรูปของกรดแลคติก ซึ่งจะขึ้นอยู่กับ ชนิดของจุลินทรีย์ ชนิดของอาหาร และสิ่งแวดล้อมต่างๆ

งานวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งที่จะศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* กับ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในระดับฟลาสก์และศึกษาถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกได้แก่ ชนิดอาหาร ความเข้มข้นของสับสเตรท ความเร็วรอบ ปริมาณอากาศ และอุณหภูมิทั้งในระดับฟลาสก์และในระดับถังหมัก

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* กับ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

1.2.2 ศึกษาถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกได้แก่ ชนิดอาหาร ความเข้มข้นของสับสเตรท ความเร็วรอบ ปริมาณอากาศ และอุณหภูมิ ในระดับฟลาสก์และในระดับถังหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้จะศึกษาวิธีการดำเนินการผลิตกรดแลคติกโดยกระบวนการหมัก ซึ่งใช้เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ (homofermentative) โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จะเป็นการศึกษาถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp.

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เพื่อทราบถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus* sp.

1.4.2 เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 ประวัติความเป็นมาของการผลิตกรดแลคติก

กรดแลคติกได้ถูกค้นพบครั้งแรกปี ค.ศ. 1790 ซึ่งพบในนมเปรี้ยวโดย Scheele ต่อมาในปี ค.ศ. 1867 Pasteur ได้ค้นพบว่ารสเปรี้ยวของนมมีสาเหตุมาจากเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ปีค.ศ. 1878 Lister ได้ศึกษาถึงการผลิตกรดแลคติกโดยจุลินทรีย์ซึ่งเขาได้ทำการแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกออกจากนมเปรี้ยวโดยวิธีการทำให้เจือจาง และในปี ค.ศ. 1881 Garrett ได้ผลิตกรดแลคติกขึ้นเป็นการค้าที่ เมือง Littleton รัฐ Massachusetts โดยทำในรูปของแคลเซียมแลคเตต ซึ่งในการผลิตครั้งแรกนั้นยังไม่ค่อยประสบความสำเร็จจึงได้มีการพัฒนาต่อไปเพื่อจะได้นำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง อุตสาหกรรมสิ่งทอ และอุตสาหกรรมอาหาร (Leland และ Richard, 1954) ต่อมาได้มีการศึกษาถึงการผลิตกรดแลคติกอย่างกว้างขวางมากขึ้นเพื่อที่จะผลิตกรดแลคติกให้ได้ปริมาณสูงโดยคำนึงถึงต้นทุนการผลิตด้วย และพบว่าปัจจัยหลายอย่างมีผลต่อการผลิต เช่นแหล่งคาร์บอน โดยพบว่าถ้าใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนจะได้กรดแลคติกเป็นผลผลิตหลักในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่ถ้าใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนจะได้กรดแลคติกในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจนก็ได้ (Vries และคณะ,1970) นอกจากแหล่งอาหารของเชื้อแล้ว การผลิตกรดแลคติกก็ยังขึ้นอยู่กับสภาวะการผลิตด้วยเช่น พีเอช โดย Dutta และคณะ (1996) ได้ศึกษาถึงการผลิตกรดแลคติกพบว่าการหมักโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ที่พีเอช 5.3 เป็นสภาวะที่เชื้อสามารถผลิตกรดแลคติกได้มากที่สุด

การผลิตกรดแลคติกนั้นจะนิยมผลิตโดยการหมัก ซึ่งมีทั้งกระบวนการหมักแบบแบช (batch)และกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง (continuous) พบว่ากระบวนการหมักกรดแลคติกแบบต่อเนื่องนั้นสามารถนำเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์กลับมาใช้ได้ใหม่ทำให้เกิดประโยชน์สูงสุดเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิต (Vick และคณะ, 1983) ต่อมาในปี ค.ศ. 1992 ได้พบถึงปัญหาในการผลิตกรดแลคติกโดย Ohara และคณะ (1996) โดยพบว่ากรดแลคติกที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ โดยจะขึ้นอยู่กับปริมาณและรูปแบบของกรดแลคติก Benthin และ Villadsen (1995) พบว่าการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะถูกยับยั้งโดยกรดแลคติกที่อยู่ในรูปแบบของ L มากกว่าในรูปแบบของ D ซึ่งการยับยั้งส่วนใหญ่จะมีผลกระทบรุนแรงในช่วง lag phase

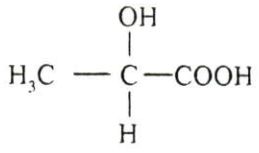
โดยทั่วไปกรดแลคติกจะถูกผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียส่วนใหญ่ซึ่งสามารถผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณมากและใช้ระยะเวลาสั้น แต่ก็มีเชื้อราบางชนิดที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ เช่น *Rhizopus* จากการศึกษาของ Soccol และ คณะ (1994) พบว่า *Rhizopus* ทั้งหมด 19 สายพันธุ์มีเพียง 4 สายพันธุ์ที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ ซึ่งทำการทดลองในระดับฟลาสก์และพบว่า *Rhizopus oryzae* NRRL 395 สามารถผลิตกรดแลคติกได้ที่ความเข้มข้นสูงสุดคือ 65 กรัมต่อลิตร ในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนเพียงพอ

จนถึงในปัจจุบันได้มีการสนใจนำการตรึงเซลล์มาประยุกต์ใช้ในการผลิตกรดแลคติกเพื่อลดต้นทุนและสามารถนำเซลล์กลับมาใช้ใหม่ได้โดย Kai-Lai และ Anthony (1997) ได้พบว่าสภาวะของการผลิตกรดแลคติกโดยตรึงเซลล์ที่ใช้ Plastic Composite Supports (PCS) จะทำให้เชื้อเข้าสู่สภาวะ Lag time สั้นกว่าคือ 1.5 ชม. แต่ในสภาวะที่ใช้เซลล์ใช้เวลา 9 ชม. และพบว่าสภาวะที่ใช้ PCS จะให้ความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้น 40-70% และระยะเวลาการหมักสั้นกว่าถึง 28-61%

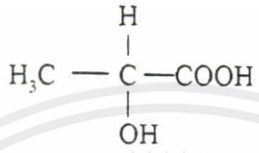
2.2 ลักษณะโครงสร้างของกรดแลคติก

กรดแลคติกที่ผลิตได้นั้นจะมีสีเหลืองอ่อนเป็นของเหลวค่อนข้างหนืดและเหนียว มีความถ่วงจำเพาะ 1.294 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีจุดเดือดเท่ากับ 52.8 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้ในน้ำ แอลกอฮอล์ และอีเทอร์ แต่จะไม่ละลายในคลอโรฟอร์ม กรดแลคติกที่ผลิตโดยกระบวนการหมักนั้นมีอยู่ 2 รูปแบบคือรูปแบบ L (+) และรูปแบบ D (-) (Benthin และVilladsen,1995)ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีต่างกัน(ภาพที่ 2.1 และ 2.2) แบคทีเรียบางชนิดจะผลิตได้เพียง 1 รูปแบบขณะที่แบคทีเรียบางชนิดผลิตได้ทั้ง 2 รูปแบบดังตารางที่ 2.1 โดยรูปของกรดแลคติก และปริมาณของกรดแลคติกนั้นขึ้นอยู่กับ ชนิดของจุลินทรีย์ ชนิดอาหาร และสภาวะแวดล้อมต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.1 สูตรโครงสร้างกรดแลคติกรูป L (+)



ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างกรดแลคติกรูป D (-)

ที่มา : Reuter,1975.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่2.1 แสดงรูปแบบของกรดแลคติกที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ (Hammes และคณะ,1991)

ชนิดจุลินทรีย์		รูปแบบของกรดแลคติก
โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ		
Lactobacillus	*delbrueckii* ssp. *delbrueckii*	D (-)
Lactobacillus	*delbrueckii* ssp. *lactis*	D(-)
Lactobacillus	*plantarum*	DL
Lactobacillus	*salivarius*	L (+)
Lactobacillus	*bavaricus*	L (+)
Lactobacillus	*casei*	L (+)
Lactobacillus	*sake*	DL
Lactobacillus	*acidophilus*	DL
Lactobacillus	*mali*	L (+)
Lactobacillus	*amylophilus*	L (+)
Pediococcus	*parvulus*	DL
Pediococcus	*pentosaceus*	DL
Pediococcus	*acidilactici*	DL
เฮทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ		
Lactobacillus	*brevis*	DL
Leuconostoc	sp.	D (-)
Microbacterium	sp.	L (+)
Rhizopus	sp.	L (+)
Lactobacillus	*acetotolerans*	DL
Lactobacillus	*hamsteri*	DL
Lactobacillus	*agilis*	L (+)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติก

โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียที่สำคัญในการผลิตกรดแลคติกจะอยู่ในสกุล *Lactobacillus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactococcus* และ *Streptococcus* ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียพวกแกรมบวกมีลักษณะเป็นท่อนหรือทรงกลม ไม่สร้างสปอร์ แบ่งตัวได้ระนาบเดียวทำให้เกิดเป็นเส้นสายในการเจริญเติบโต ต้องการคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน กรดอะมิโนหรือเพปไทด์บางชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจนและบางชนิดยังต้องการวิตามินหลายชนิด Lactic Acid Bacteria สามารถหมักน้ำตาลแล้วให้กรดแลคติกอย่างรวดเร็ว ดังนั้นเมื่อเจริญเติบโตร่วมกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นมักเจริญเติบโตได้ดีกว่า (Stackebrandt และ Teuber,1988)

Lactic acid bacteria สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มโดยใช้ลักษณะการหมักน้ำตาลและรูปร่างลักษณะดังนี้ (Mckay, 1990)

การแบ่งโดยใช้ลักษณะการหมักน้ำตาล แบ่งออกได้เป็น

ก. โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ (homofermentative) หมักน้ำตาลแล้วให้กรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ มีกรดแอซีติก คาร์บอนไดออกไซด์ และสารอื่นๆ อีกเล็กน้อย

ข. เฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ (heterofermentative) หมักน้ำตาลแล้วให้กรดแลคติก กรดแอซีติก คาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ในปริมาณใกล้เคียง

การแบ่งโดยใช้รูปร่างลักษณะ แบ่งออกได้เป็น

ก. แบคทีเรียให้กรดแลคติกซึ่งมีรูปร่างทรงกลม (cocci) สกุลที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ *Strepococcus* sp., *Pediococcus* sp. และ *Leuconostoc* sp.

ข. แบคทีเรียให้กรดแลคติกซึ่งมีรูปร่างเป็นท่อน (rod) ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมมีเพียงสกุลเดียวคือ *Lactobacillus* sp.

Lactic acid bacteria ที่ผลิตกรดแลคติกได้แก่

Lactobacillus (Hammes และคณะ ,1991) เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนมักจะต่อกันเป็นเส้นสาย ต้องการคาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน และสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำในการเจริญเติบโต หมักน้ำตาลแล้วให้กรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ แหล่งที่สามารถจะพบ *Lactobacillus* ได้แก่

ก.ช่องปาก จะพบเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่องปาก เช่น *Lactobacillus casei, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus fermentum* และ *Lactobacillus plantarum*

ข. บริเวณลำไส้ จะพบไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์ของจุลินทรีย์ทั้งหมดในลำไส้ โดยพบที่ลำไส้เล็กประมาณ 10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และกระเพาะอาหารประมาณ 10^3-10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร เช่น *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus fermentum , Lactobacillus reuteri, Lactobacillus lactis* และ *Lactobacillus salivarius*

ลิขสิทธิ์เป็นของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ จะพบประมาณ 10^3 เซลล์ต่อกรัมที่บริเวณผิวหน้า และได้มีการวิเคราะห์โดย Reuter (1975) พบว่าในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ชนิดที่พบมากได้แก่ *Lactobacillus curvatus* และ *Lactobacillus sake* ส่วนที่พบบ้างเล็กน้อยได้แก่ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus casei, Lactobacillus farciminis, Lactobacillus alimentarius, Lactobacillus brevis* และ *Lactobacillus halotolerans* สำหรับพวกไส้กรอกและแฮมจะพบ *Lactobacillus curvatus* และ *Lactobacillus sake* เป็นหลัก และจะพบ *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus alimentarius* และ *Lactobacillus farciminis* บ้างเล็กน้อย

ง. นมและผลิตภัณฑ์นม (Teuber,1990) ในนมสดจะพบประมาณ 10^2-10^3 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ได้แก่ *Lactobacillus casei, Lactobacillus plantarum, Lactobacillus brevis, Lactobacillus coryneformis, Lactobacillus curvatus, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus lactis* และ *Lactobacillus fermentum* สำหรับการผลิตนมเปรี้ยวจะมีการใส่เชื้อ *Lactobacillus delbrueckil* ssp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในนมที่อุณหภูมิ 42-45 องศาเซลเซียส ซึ่งรสเปรี้ยวที่เกิดขึ้นคือกรดแลคติกที่ผลิตโดยเชื้อเหล่านี้

Pediococcus (Weiss,1991) เซลล์จะอยู่กันเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสายสั้นๆ ทนต่อความเป็นกรดสูงและมีการหมักน้ำตาลแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ ให้กรดประมาณ 0.5-0.9เปอร์เซ็นต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก ใช้เป็นตัวเริ่มต้นในการหมักผลิตภัณฑ์จากพืชต่างๆ เช่น กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) แตงกวาดอง และผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์เช่น ไส้กรอก และเบคอน โดยชนิดที่มีความสำคัญได้แก่ *Pediococcus damnosus* (*"Pediococcus cerevisiae"*)

Leuconostoc (Holzapfel และ Schillinger, 1991) เซลล์มีรูปร่างทรงกลม มีความต้องการคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน เพปไทด์ กรดไขมัน และวิตามินบางชนิด อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียสและมีการหมักน้ำตาลแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ ถ้าในสภาพแวดล้อมที่เจริญเติบโตมีน้ำตาลซูโครส (sucrose) ก็จะสร้างเมือก (slime) เป็นจำนวนมาก จากคุณสมบัติต่างๆดังกล่าวจะเห็นว่าแบคทีเรียสกุลนี้เป็นสาเหตุทำให้เนยแข็งและน้ำเชื่อมเสื่อม ทำให้มีปัญหาในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลซูโครสจากน้ำอ้อย แต่มีประโยชน์ในการทำแป้งหมักขนมปัง *Leuconostoc* บางชนิดเช่น *Leuconostoc dextranicum* และ *Leuconostoc citrovorum* เมื่อหมักนมจะเป็นตัวที่ทำให้เกิดกรดซิตริก (citric acid) และกลิ่นรสที่ต้องการ และให้กรดในปริมาณมากพอที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ ใช้เป็นตัวเริ่มต้นในการหมักผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น กะหล่ำปลีดอง แตงกวาดองและมะกอกดอง เป็นต้น

Lactococcus (Teuber และคณะ,1991) เซลล์มีรูปร่างทรงกลม มีการหมักน้ำตาลแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟและให้กรดแลคติกที่อยู่ในรูป L(+) *Lactococcus* ประกอบด้วยชนิด *Lactococcus lactis, Lactococcus garviae, Lactococcus plantarum* และ *Lactococcus raffinolactis* แหล่งที่พบแบคทีเรียสกุลนี้ได้แก่ นมสด ถั่ว และฮอพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Streptococcus (Hardie และ Whiley, 1991 ; Ruoff,1991) หมักน้ำตาลแบบโฮโมเฟอร์เมนเตติฟจะให้กรดที่อยู่ในรูป L(+) ประกอบด้วย 2 กลุ่มคือ 1) Oral Streptococci ซึ่งจะพบภายในปากและหลอดอาหาร ได้แก่ *Streptococcus mutans, Streptococcus oralis, Streptococcus salivarius* และ *Streptococcus thermophilus* โดย *Streptococcus thermophilus* จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักนม เนื้อโยเกิรต์ และเนย บางเชื้อจะสร้างพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ภายนอกเซลล์ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญของเนื้อสัมผัสโยเกิรต์ (Cerning,1990) 2) Hemolytic streptococci เป็นพวกที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Streptococcus agalactiae* สาเหตุโรคเต้านมอักเสบในวัวและ *Streptococcus pyogenes* สาเหตุก่อให้เกิดอาการเจ็บคอในคน

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติก

ในการผลิตกรดแลคติกเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุดจะต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆต่อไปนี้ (ดวงพร, 2530)

2.4.1 สายพันธุ์ของจุลินทรีย์

สายพันธุ์ที่ใช้ในการผลิตจะต้องสร้างกรดแลคติกได้มาก ให้กรดสม่ำเสมอ แยกจากวัสดุได้ง่าย และให้กรดชนิดอื่นที่ไม่ต้องการน้อย ส่วนใหญ่จะเป็นพวกโฮโมเฟอร์เมนเตติฟ

Siebold และคณะ (1995) พบว่าการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* จะให้ปริมาณกรดแลคติกและอัตราการผลิตจำเพาะ (Specific production rate, π) สูงกว่าเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ที่ความเข้มข้นของกลูโคสเท่ากัน

2.4.2 ชนิดและความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ใช้ เลี้ยงเชื้อ

จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกจะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน ส่วนแหล่งของไนโตรเจนได้แก่ yeast extract, peptone, grass extract (สารสกัดที่ได้จากการหมักหญ้า) และ malt sprouts (ต้นอ่อนของมอลท์) โดยชนิดและความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ใช้ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อซึ่งจะต้องปรับสภาวะให้เหมาะสมถึงจะได้ผลผลิตสูงขึ้น

Siebold และคณะ (1995) พบว่าการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ที่ความเข้มข้นของกลูโคส 30 กรัมต่อลิตรจะให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และความเข้มข้นของกรดแลคติกสูงสุด (Lac_{max}) สูงกว่าที่ความเข้มข้นของกลูโคส 20 กรัมต่อลิตร

Hujanin และ Linko (1996) พบว่าการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* เมื่อใช้ yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้กรดแลคติก 100 กรัมต่อลิตร ภายใน 48 ชั่วโมง เมื่อใช้

malt sprouts จะให้กรดแลคติก 88 กรัมต่อลิตร ภายใน 66 ชั่วโมง และเมื่อใช้ peptone จะให้กรดแลคติก 79 กรัมต่อลิตร ภายใน 66 ชั่วโมง

Vaccari และคณะ (1993) พบว่า การผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *casei* จะให้ค่าอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) สูงเมื่อมีความเข้มข้นของกลูโคสในช่วง 4-6 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นค่า μ จะลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลูโคสเพิ่มมากขึ้น

2.4.3 เกลืออนินทรีย์

ได้แก่เกลืออนินทรีย์ของธาตุโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และแมงกานีส เป็นต้น ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้จะเรียกว่า trace metal ปริมาณที่เหมาะสมของธาตุต่างๆ ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้

2.4.4 พีเอช

ถ้ามีการควบคุมพีเอชในการหมักให้เหมาะสม แล้วจะทำให้การสร้างกรดได้ดี โดยทั่วไปพีเอชที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจะอยู่ในช่วง 5-6 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์

Dutta และคณะ (1996) รายงานว่า พีเอชที่ 5.3 จะเหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii*

2.4.5 ปริมาณออกซิเจน

เชื้อที่ใช้ในการผลิตกรดแลคติกส่วนใหญ่ จะเป็นพวกที่ไม่ต้องการออกซิเจน ดังนั้นในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติก

Vaccari และคณะ(1993) รายงานว่าสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* ในถังหมัก คือสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่ใช้แก๊สไนโตรเจนเข้าไปแทนที่ออกซิเจน

2.4.6 อุณหภูมิ

อุณหภูมิจะขึ้นกับชนิดของเชื้อที่ใช้และสภาวะอื่นๆ ของกระบวนการหมัก แต่โดยทั่วไปจะอยู่ในช่วง 37- 45 องศาเซลเซียส

Hujanin และ Linko (1996) พบว่าเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* จะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และปริมาณกรดแลคติกจะน้อยลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น

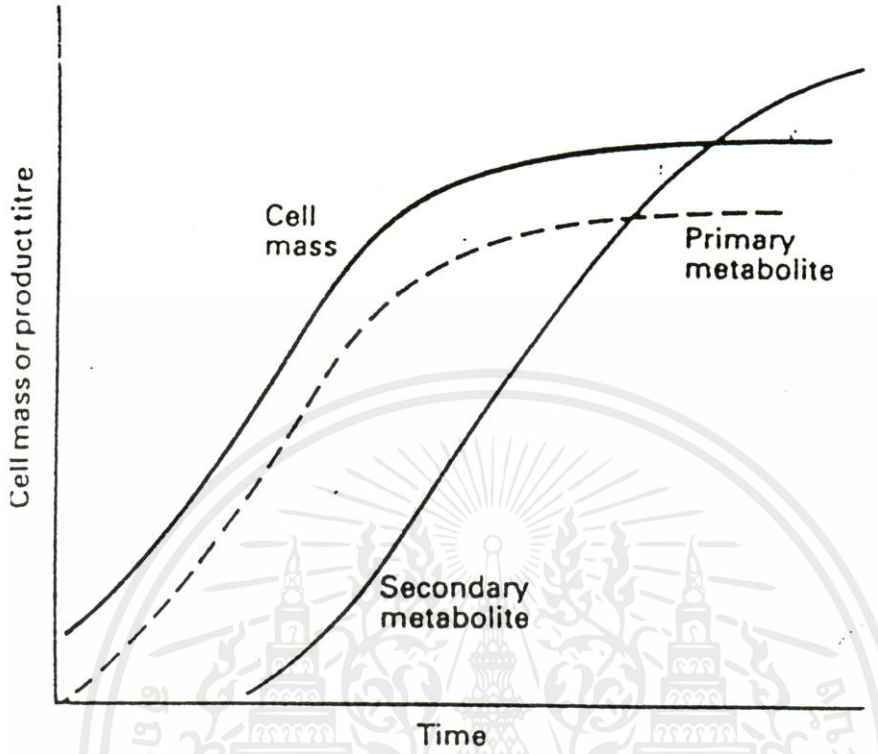
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การหมักกรดแลคติก

การหมัก (fermentation) คือ กระบวนการแปรสภาพทางชีวเคมี ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ที่สร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ การหมักอาจเกิดขึ้นในสภาวะที่มีการให้อากาศเต็มที่ หรือให้อากาศเพียงเล็กน้อย หรือปราศจากอากาศ ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจเกิดจากการสังเคราะห์หรือการย่อยสลายทางชีวเคมี(วราวุฒิ,2529)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์เป็นสารที่ได้จากกระบวนการสร้างและสลายปฐมภูมิ (primary metabolite) ซึ่งมาจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีวเคมีของจุลินทรีย์ที่กำลังมีการเจริญเติบโตและเป็นสารประกอบที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นเพื่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Campbell,1984) ดังภาพที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

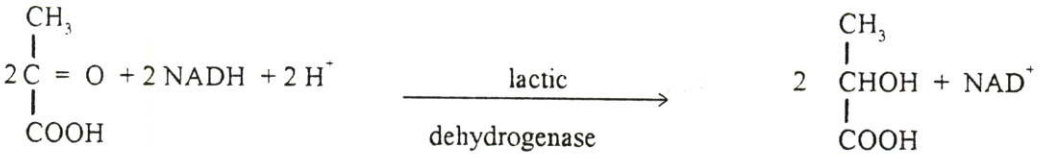


ภาพที่ 2.3 จลนพลศาสตร์ (kinetics) ของการสร้างสารจากกระบวนการสร้างและสลายปฐมภูมิที่สัมพันธ์กับการเจริญของเซลล์

ที่มา : Primrose , 1991

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักกรดแลคติก คือการทำให้น้ำตาลกลูโคสสลายตัวเป็นกรดแลคติก โดยน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุลจะถูกเปลี่ยนแปลงให้เป็นกรดไพรูวิก 2 โมเลกุล และอิเล็กตรอน 2 คู่ออกมาด้วยเนื่องจากไม่มีลูกโซ่การหายใจเพื่อดูดซับอิเล็กตรอนโดยวิถีทางอื่น ดังสมการ



Pyruvic acid Lactic acid

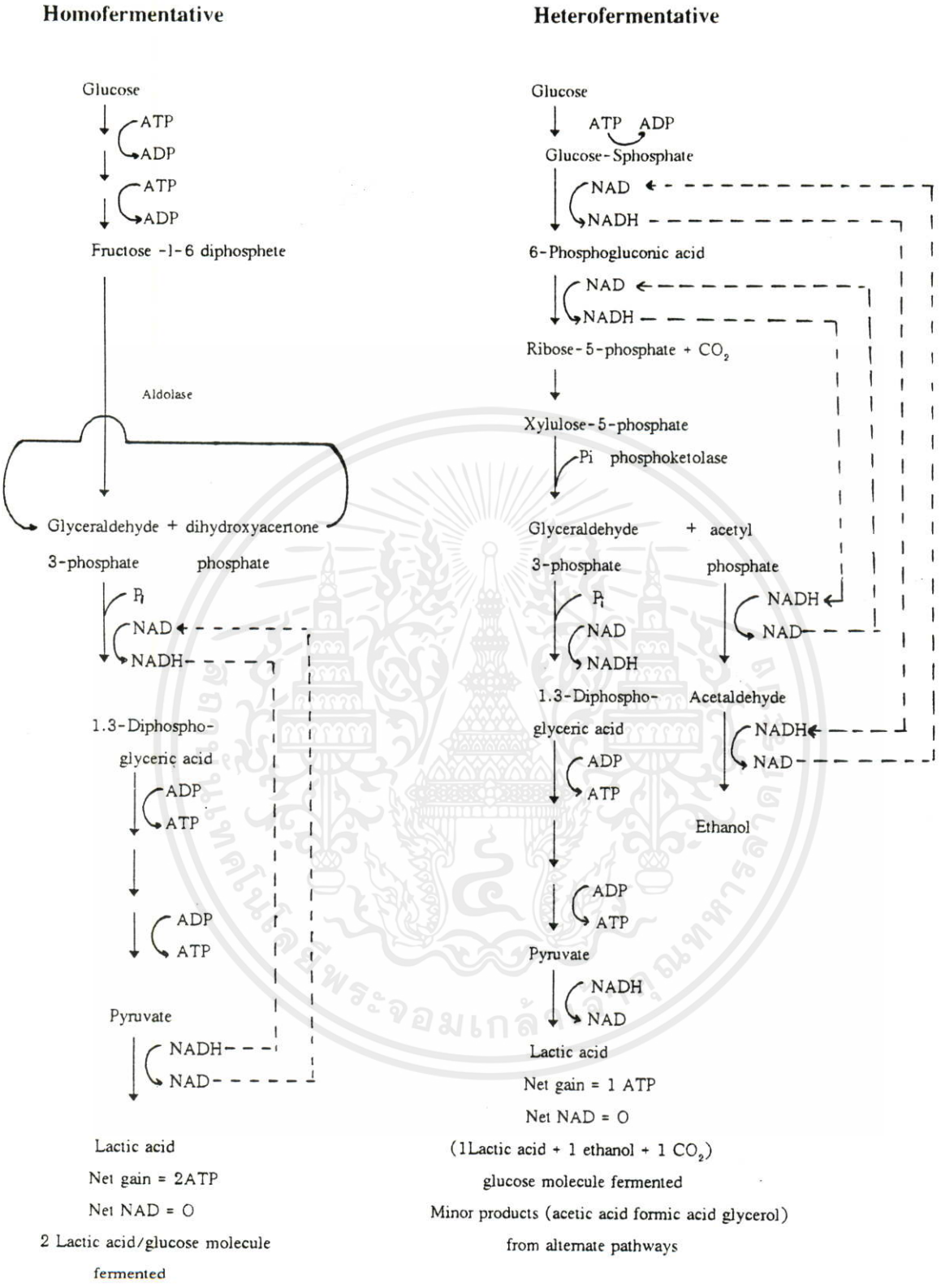
การหมักกรดแลคติก มี 2 แบบคือ (Kandler,1983)

ก. โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ (homofermentative)

ข. เฮ็ทเทอร์เฟอร์เมนเตตีฟ (heterofermentative)

ถ้าเป็นแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ คือกลูโคส 1 โมเลกุล จะเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้มากกว่า 1.8 โมเลกุล แต่ถ้าเป็นแบบเฮทเทอร์โรเฟอร์เมนเตตีฟ กลูโคส 1 โมเลกุลจะเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้น้อยกว่า 1.8 โมเลกุล จากภาพที่ 2.4 แสดงวิถีทางของการหมักกูลโคส แบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ และแบบเฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ โดยการหมักแบบ โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ จะมีเอนไซม์อัลโดเลส (aldolase) เป็นตัวสำคัญ แต่การหมักแบบเฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟจะไม่มีเอนไซม์อัลโดเลส จึงไม่สามารเปลี่ยนเฮกโซสไดฟอสเฟต (hexose diphosphate) ไปเป็นไตรโอสฟอสเฟต (triose phosphate) แต่จะออกซิไดส์กลูโคส -6-ฟอสเฟต (glucose -6- phosphate) ไปเป็น 6 - ฟอสโฟกลูโคเนต (6 - phosphogluconate) และเมื่อถูกปฏิกิริยาดีคาร์บอกซีเลชั่น (decarboxylation) จะเปลี่ยนไปเป็นเพ็นโตสฟอสเฟต (pentose phosphate) และจะเปลี่ยนไปเป็นไตรโอสฟอสเฟต และ อะซิทิลฟอสเฟต (acetyl phosphate)โดยเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) ส่วนไตรโอสฟอสเฟตจะเปลี่ยนไปจนได้ผลสุดท้ายเป็นกรดแลคติก ขณะเดียวกันอะซิทิลฟอสเฟตจะได้รับอิเล็กตรอนจาก NADH ที่ได้ระหว่างการผลิตเพ็นโตสฟอสเฟตและเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล การหมัก แบบ โฮโมเฟอร์เมนเตตีฟจะให้พลังงาน 2 ATP และการหมักแบบเฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ จะให้พลังงาน 1 ATP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ภาพที่ 2.4 แสดงวิถีของการหมักกรดแลคติกแบบโฮโมเฟอร์เมนเตตีฟ และแบบเฮ็ทเทอโรเฟอร์เมนเตตีฟ

ที่มา : Campbell , 1984.

ข้อดีของกระบวนการหมักเปรียบเทียบกับกระบวนทางเคมี ได้แก่ (ดุษณี,2537)

1) สามารถสังเคราะห์อินทรีย์สารที่มีโมเลกุลซับซ้อน เช่น โปรตีน และยาปฏิชีวนะ ซึ่งไม่สามารถสังเคราะห์โดยวิธีทางเคมีได้
2) การเปลี่ยนสารประกอบโดยสิ่งมีชีวิตจะให้ผลผลิตที่สูง
3) กระบวนการหมักเกิดขึ้นที่อุณหภูมิต่ำ พีเอชใกล้เป็นกลาง
4) ตัวเร่งปฏิกิริยามีความจำเพาะเจาะจงกว่ากระบวนการทางเคมี
5) สามารถผลิตสารประกอบที่เหมือนกันได้ดี

ข้อเสียของกระบวนการหมักเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการทางเคมี ได้แก่

1) กระบวนการผลิตโดยใช้สิ่งมีชีวิตอาจมีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ
2) ผลิตภัณฑ์ที่สังเคราะห์ได้จะปนมากับผลิตภัณฑ์อื่นๆ ซึ่งต้องนำมาแยกออก
3) จะต้องจัดหาบริเวณรองรับน้ำทิ้งปริมาณมากที่ออกมาจากกระบวนการหมัก
4) กระบวนการหมักจะเป็นไปค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับกระบวนการทางเคมี

2.6 การหมักในอาหารเหลวแบบแบช (batch fermentation)(ดุษณี,2537และ Scragg,1991)

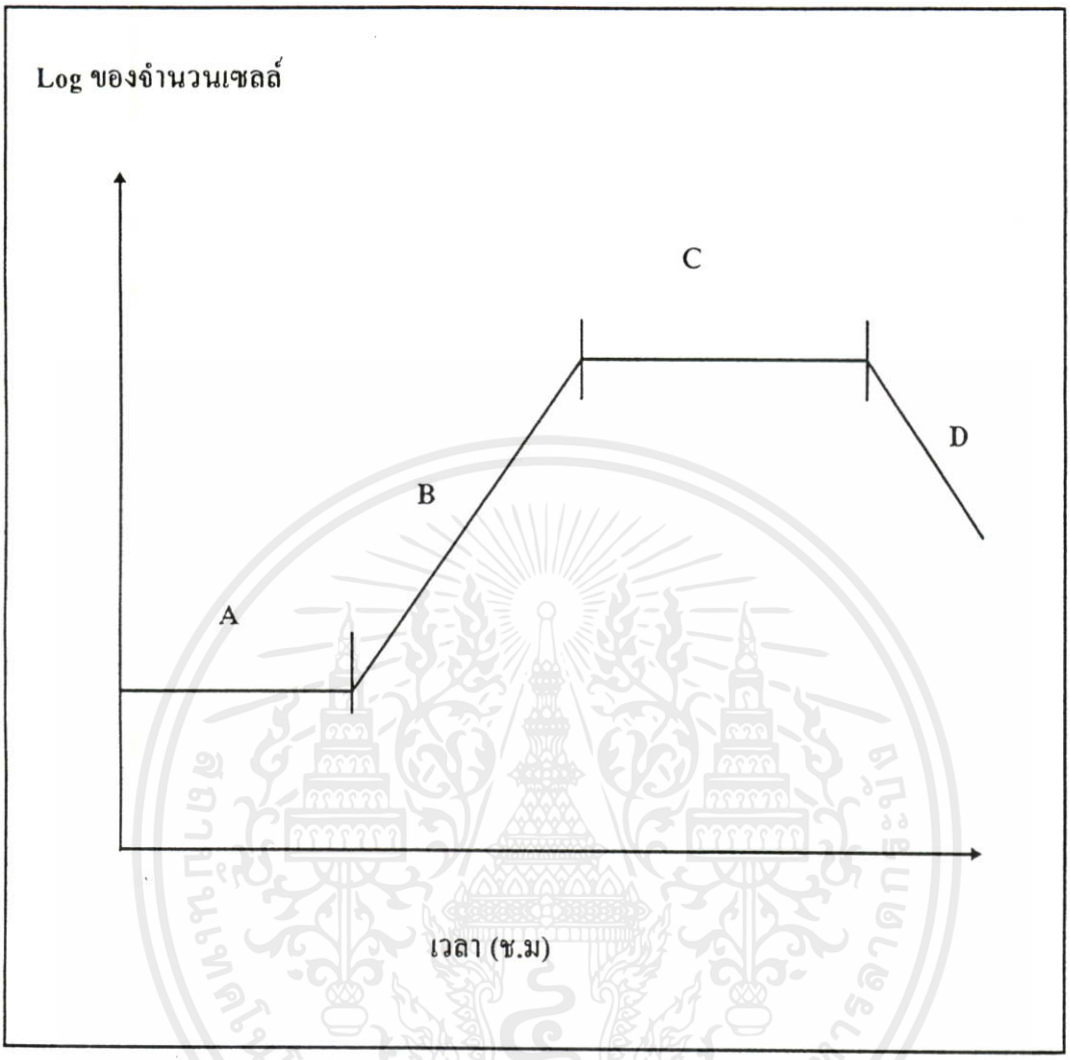
เป็นระบบเลี้ยงเชื้อแบบปิด (closed system) มีทั้งระดับฟลาสก์ และระดับถังหมัก โดยจะบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมและกำหนดปริมาตรที่แน่นอน ไม่มีการเติมหรือดึงอาหารออกมาในระหว่างการเพาะเลี้ยง จึงทำให้สภาพภายในถังหมักมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา(unsteady stage) อัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะลดลงเป็นศูนย์เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อหมดลง หรือเมื่อสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลง เช่นมีการสะสมของเสียที่เป็นพิษเกิดขึ้น หรือมีการเปลี่ยนแปลงพีเอช ด้วยเหตุนี้กระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในระบบนี้จะมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา แต่กระบวนการหมักแบบแบชก็ยังใช้อย่างกว้างขวางในการผลิตทางอุตสาหกรรม โดยการปรับสภาพให้เหมาะสมเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงสุด

ลักษณะการเจริญของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักแบบแบช จะมีขั้นตอนการเจริญเติบโตซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 4 ระยะได้ดังนี้

1) lag phase
2) log หรือ exponential phase
3) stationary phase
4) decline หรือ death phase

กราฟการเจริญของจุลินทรีย์ได้แสดงไว้ในภาพที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่2.5 กราฟแสดงการเจริญของจุลินทรีย์ในการหมักแบบแบช

A = Lag phase

B = Log หรือ Exponential phase

C = Stationary phase

D = Death phase

ที่มา : Scragg , 1991.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

Lag phase

เป็นระยะที่เริ่มหลังจากมีการใส่เชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร เป็นช่วงที่เซลล์มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ เซลล์จะมีการขยายขนาดใหญ่ขึ้นและสังเคราะห์โพรโทพลาสต์ใหม่ จุลินทรีย์จะมีการสังเคราะห์เอนไซม์หรือโคเอนไซม์เพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมและในช่วงนี้เซลล์จุลินทรีย์จะยังไม่มีการแบ่งตัว ไม่มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ แต่น้ำหนักของเซลล์อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ ระยะของ lag phase จะใช้เวลามากน้อยหรือไม่มีช่วงนี้ขึ้นอยู่กับอายุของเซลล์จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ ความเหมาะสมของสภาพแวดล้อม และวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ

Log phase

เป็นระยะที่เกิดหลังจากช่วง lag phase โดยเซลล์มีการแบ่งตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วในอัตราคงที่ เซลล์จะมีองค์ประกอบทางเคมี กระบวนการเมแทบอลิซึม และสรีรวิทยาอื่นๆ ที่เหมือนกัน เป็นระยะที่เซลล์มีประสิทธิภาพสูงสุด อัตราการเจริญของจุลินทรีย์จะขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของสารอาหารและสิ่งแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ และพีเอช เป็นต้น

ในระยะ log phaseพบว่าในช่วงระยะเวลาสั้นๆ (dt) การเพิ่มปริมาณเซลล์ (dx) จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณเซลล์ (x) ที่มีอยู่กับช่วงระยะเวลานั้น ดังสมการ

$$dx = \mu x dt \quad \text{——— (1)}$$

$$\mu = \frac{1}{x}\frac{dx}{dt}$$

x = ปริมาณของเซลล์จุลินทรีย์ ($k\ gm^{-3}$)

t = เวลา (h)

μ = อัตราการเจริญจำเพาะ(Specific growth rate, h^{-1})

เมื่อ อินทิเกรต สมการที่ (1)

$$\int_{x_o}^{x_t} \frac{dx}{x} = \int_{t_{lag}}^{t} \mu \, dt$$

โดยค่า μ เป็นค่าคงที่เมื่อเซลล์อยู่ในช่วง log phase

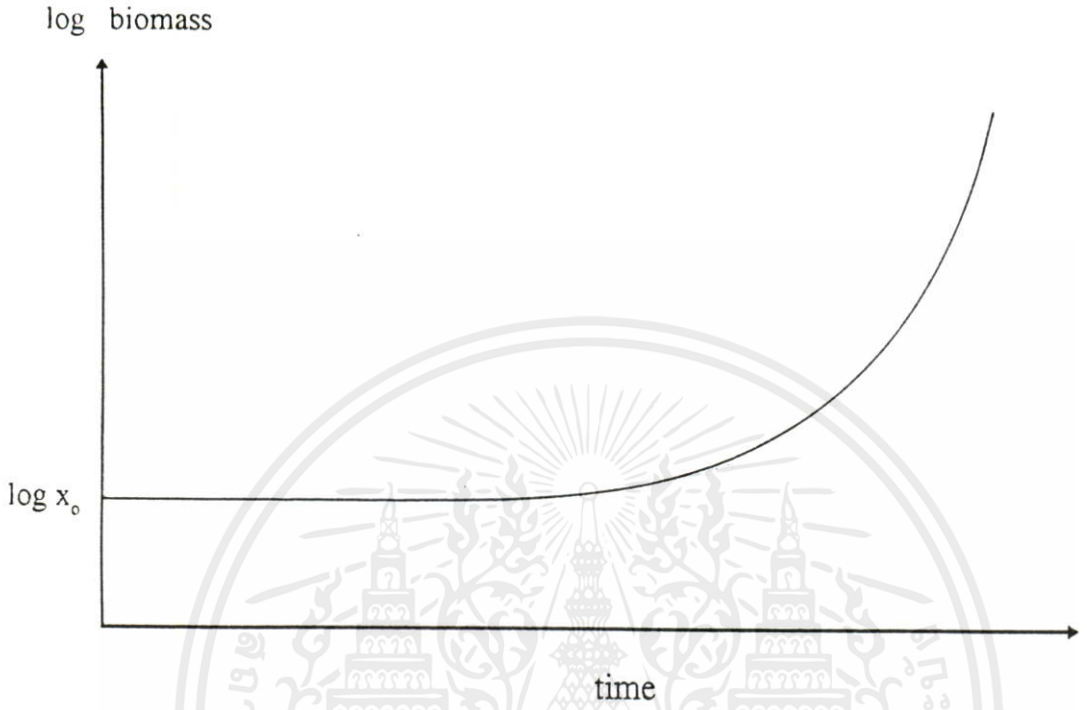
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\ln x_t = \ln x_0 + \mu (t - t_{lag})$$

$$\mu = \frac{\ln x_t - \ln x_0}{t - t_{lag}}$$

31943

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง lnx กับเวลา ความชันของเส้นตรงที่ได้จะมีค่าเท่ากับ μ ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ln X กับ เวลา
ที่มา : อร ไท, 2538.

ในระยะ log phase การเพิ่มปริมาณของเซลล์จะสัมพันธ์กับค่า specific growth rate (μ) และความเข้มข้นของเซลล์ (X) ที่มีหน่วยเป็นกรัมต่อลิตร (g/l)

$$r_x = \frac{dx}{dt} = \mu . X \qquad (2)$$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_S+S} \qquad (3)$$

เมื่อ μ = อัตราการเจริญจำเพาะ (specific growth rate, h^{-1})

μ_{max} = อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (h^{-1})

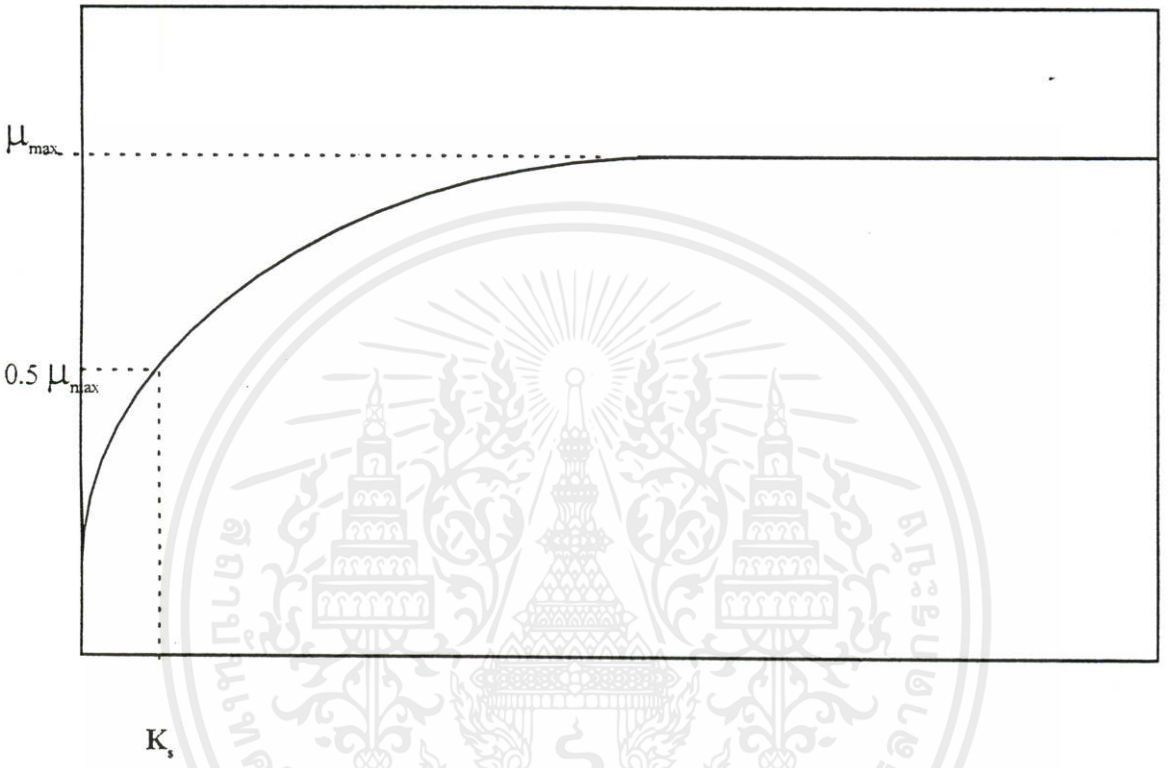
K_S = ความเข้มข้นของสารอาหารที่ทำให้อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อ(μ) มีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดของเชื้อนั้นๆ (kgm^{-3})

S = ความเข้มข้นของสารอาหาร (kgm^{-3})

r_x = อัตราการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ($kg\ cells\ m^{-3}\ h^{-1}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยสมการที่ 3 นี้เรียกว่า Monod ' s equation ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญและความเข้มข้นของสารอาหารโดยค่าคงที่ของโมนอด (K_s)จะมีค่าเป็นครึ่งหนึ่งของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ดังภาพที่2.7



ภาพที่2.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเจริญจำเพาะ (μ) กับปริมาณความเข้มข้นของสารอาหาร (S)

ที่มา : Wang และคณะ,1979.

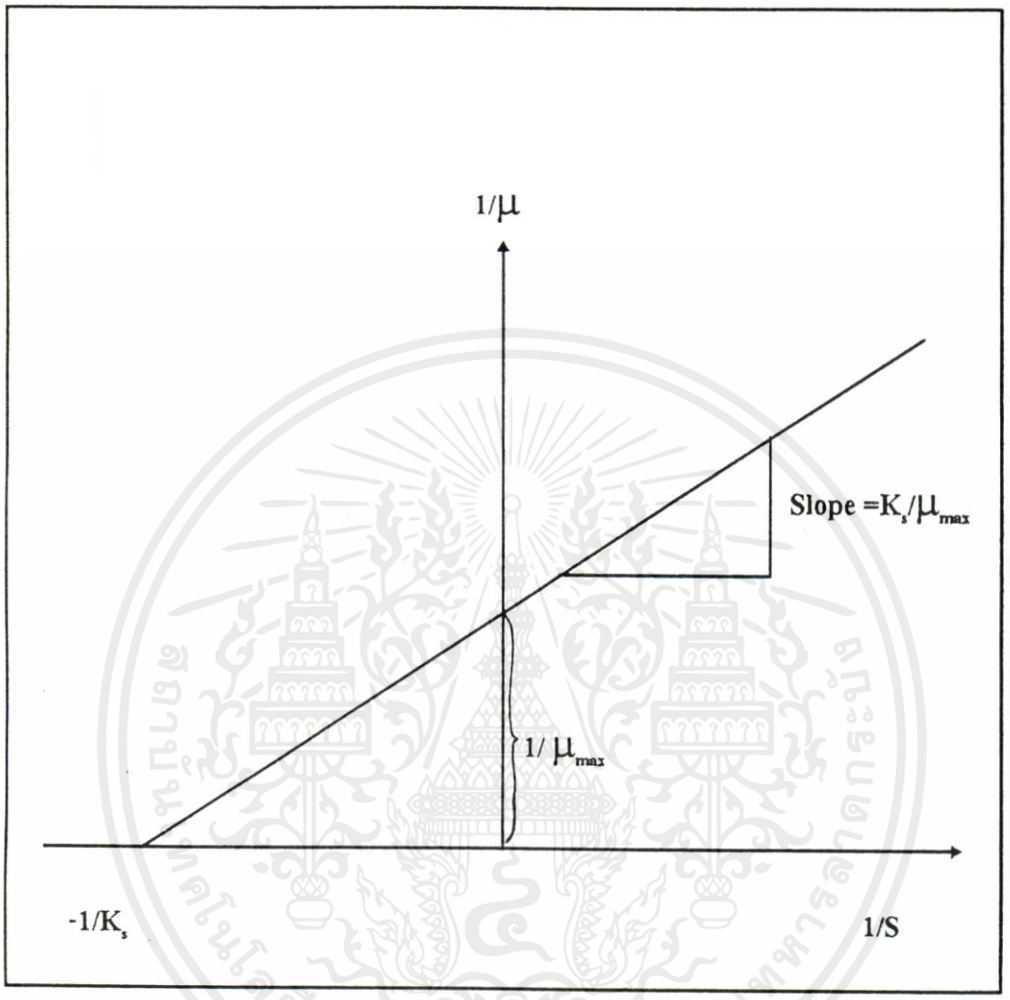
โดยทั่วๆ ไปค่า specific growth rate (μ) จะขึ้นอยู่กับปัจจัย 3 อย่างคือ ความเข้มข้นของสารอาหารที่จำกัด (limiting substrate, S) อัตราการเจริญสูงสุด (maximum specific growth rate ,μ_{max}) และ ค่าคงที่ของโมนอด (substrate specific constant , K_S)

จากสมการของ Monod อาจเขียนใหม่ให้คล้ายกับสมการ Lineweaver - Burk ในปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้เป็นสมการใหม่ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_m}\frac{1}{[S]} + \frac{1}{\mu_m}$$

เมื่อสร้างกราฟระหว่าง 1 / μ กับ 1 /[S] จะได้เส้นตรงที่มีความชันเท่ากับ K_s / μ_{max} และค่าที่ตัดแกน Y เท่ากับ 1 /μ_{max} ค่าที่ตัดแกน X เท่ากับ - 1/ K_s ดังแสดงในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง 1 / [S] กับ 1 / μ
ที่มา : McNeil และ Harvey , 1990.

ค่า μ_{max} จะมีความสำคัญในอุตสาหกรรม ซึ่งค่านี้จะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และปัจจัยต่างๆ ในการหมัก

ในระยะ log phase เป็นระยะที่มีการผลิตเซลล์และผลิตภัณฑ์ เพราะฉะนั้นค่าพารามิเตอร์ที่มีความสำคัญและเกี่ยวข้องในระยะนี้นอกจากค่า μ_{max} แล้วยังมีค่า $Y_{X/S}$ และ $Y_{P/S}$ ซึ่งเป็นค่าที่แสดงประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์หรือผลิตภัณฑ์ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\frac{dx}{dt} = -Y_{X/S} \cdot \frac{ds}{dt}$$

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

และ $$\frac{dp}{dt} = -Y_{P/S} \cdot \frac{ds}{dt}$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

Stationary phase

เป็นระยะที่ต่อจากระยะ log phase ระยะนี้อัตราการเจริญจะลดลงจนกระทั่งเป็นศูนย์ เป็นช่วงที่เซลล์มีปริมาณค่อนข้างคงที่ที่จุดสูงสุดนั้นคืออัตราการเจริญเท่ากับอัตราการตายรวมกับการแตกสลายของเซลล์ การที่เซลล์ไม่เพิ่มปริมาณขึ้นอีกเพราะสารอาหารที่จำเป็นหมด มีการสะสมของสารพิษ และมีการเปลี่ยนแปลงสิ่งแวดล้อม เช่นพีเอช จุลินทรีย์ยังคงมีชีวิตอยู่โดยอาศัยอาหารที่เก็บสะสมไว้ภายในเซลล์ หรือพัฒนารูปแบบของเซลล์ให้มีความทนทาน เช่นมีการสร้างสปอร์ ซึ่งในระยะนี้เซลล์จะมีการสร้างสารหลายชนิดซึ่งมีประโยชน์ทางเทคโนโลยีชีวภาพ

Death phase

เป็นระยะที่อัตราการตายจะมีมากกว่าอัตราการเจริญ อัตราการตายของเซลล์จุลินทรีย์จะใช้เวลาต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เซลล์บางชนิดจะตายอย่างรวดเร็ว

กระบวนการหมักแบบแบชนี้มักใช้ในการผลิตเซลล์จุลินทรีย์ในปริมาณมากและการผลิตสารจากกระบวนการสร้างและสลายปฐมภูมิและทุติยภูมิ ในการผลิตเซลล์จะต้องปรับสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์มากที่สุด สำหรับการผลิตสารจากกระบวนการสร้างและสลายปฐมภูมินั้นจะต้องปรับสภาพแวดล้อม เพื่อให้ระยะของ exponential phase นานขึ้นเพื่อให้มีการสะสมของผลิตภัณฑ์จากกระบวนการมากขึ้น และในกรณีที่ต้องการผลิตภัณฑ์จากกระบวนการสร้างและสลายทุติยภูมิ จะต้องปรับสภาพแวดล้อมเพื่อให้ระยะของ exponential phase สั้นลง และระยะของ stationary phase นานขึ้น หรือลดอัตราการเจริญของจุลินทรีย์ในช่วง log phase เพื่อให้จุลินทรีย์มีการสร้างสารจากกระบวนการสร้างและสลายทุติยภูมิเร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ถังหมักที่ใช้สำหรับการหมักในอาหารเหลว

หลักสำคัญในกระบวนการหมักทุกประเภท คือ ทุกๆส่วนของระบบจะต้องอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เหมือนกัน ภายในถังหมัก (bioreactor) จุลินทรีย์จะแขวนลอยอยู่ในอาหารเหลวที่มีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ซึ่งการควบคุมสภาพแวดล้อมในระบบถังหมักขนาดใหญ่ทำได้ยาก ดังนั้นการออกแบบระบบถังหมักที่เหมาะสมจะต้องยึดถือหลักต่างๆ ดังต่อไปนี้ (Bhattacharyya,1992)

1) ถังหมักจะต้องสามารถปฏิบัติงานได้เป็นเวลานานหลายวัน หรือหลายสัปดาห์ โดยไม่เกิดการปนเปื้อน และถังหมักจะต้องมีอายุการใช้งานยาวนานเป็นเวลาหลายปี
2) มีเครื่องกวนและเครื่องให้อากาศซึ่งสามารถให้ออกซิเจนแก่จุลินทรีย์ได้อย่างเพียงพอ โดยการกวนนั้นจะต้องไม่ทำให้เซลล์เกิดอันตราย
3) การใช้พลังงานควรจะน้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้
4) ควรมีระบบควบคุมอุณหภูมิ และค่าพีเอช ของอาหารเลี้ยงเชื้อ
5) ต้องสามารถเก็บตัวอย่างจากถังหมักได้ โดยไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อน
6) การสูญเสียของเหลว เนื่องจากการระเหยจะต้องไม่เกิดขึ้นมากเกินไป
7) ควรจะใช้แรงงานน้อยที่สุดในการควบคุมการทำงาน การเก็บเกี่ยวผลผลิต การทำความสะอาด และการบำรุงรักษา
8) สามารถใช้กับกระบวนการผลิตได้หลายแบบ
9) ผิวด้านในของถังหมักควรเรียบ รอยต่อเป็นการต่อแบบเชื่อมและขัดเรียบไม่ใช่การต่อแบบซ้อนกัน
10) ถังหมักควรมีรูปร่างแบบเดียวกันทั้งขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ เพื่อความสะดวกในการเพิ่มปริมาณการผลิต
11) ใช้วัสดุราคาถูกที่สุดซึ่งมีคุณสมบัติตามที่ต้องการ ซึ่งปกติจะเป็นเหล็กกล้าไร้สนิม

ลักษณะและขนาดของถังหมักที่นิยมใช้แบ่งเป็น 3 ระดับตามลักษณะการใช้งาน (Carleysmith, 1984) คือ

1) ถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ (Laboratory scale fermentor) มีขนาดตั้งแต่ 1 ถึง 20 ลิตร ซึ่งปริมาตรใช้งาน (Working volume) จะเป็น 0.5 ถึง 15 ลิตร
2) ถังหมักระดับโรงงานต้นแบบ (Pilot-plant scale fermentor) ถังหมักมีปริมาตรการใช้งาน 40 , 100 และ 200 ลิตร ในบางกรณีที่การผลิตต้องการใช้ถังหมักขนาดใหญ่มากๆ ก็อาจใช้ถังหมักระดับโรงงานต้นแบบที่มีขนาดใหญ่ถึง 1,000 ลิตร

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) ถังหมักระดับโรงงานผลิต (Factory scale fermentor) จะมีขนาดตั้งแต่ 20,000 , 50,000 จนถึง 500,000 ลิตร ถังหมักที่มีขนาดใหญ่กว่า 500,000 ลิตร มักสร้างเป็นรูปทรงกลม (Horton sphere) ซึ่งอาจสร้างใหญ่ถึงขนาด 2,500,000 ลิตร

วัสดุที่ใช้ในการสร้างถังหมัก (Verschoor, 1985) จะต้องทนต่อการฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำได้เป็นอย่างดี เพื่อป้องกันการปนเปื้อนในการหมัก วัสดุที่ใช้ในการสร้างถังหมักขนาดเล็ก (1-30 ลิตร) อาจใช้แก้วซึ่งมีคุณสมบัติหลายประการคือ ผิวเรียบ ไม่เป็นพิษ ไม่ผุกร่อน และสามารถมองเห็นภายในได้ ถังหมักที่ทำด้วยแก้วแบ่งได้เป็น 2 แบบคือ

1) ภาชนะแก้วที่ก้นกลมหรือแบน ด้านบนปิดด้วยฝาทำด้วยโลหะ การฆ่าเชื้อทำโดยใส่ภาชนะทั้งหมดในหม้อนึ่งอัดไอ
2) ใช้แก้วรูปทรงกระบอก ด้านบนและด้านล่างปิดด้วยโครงสร้างที่ทำด้วยเหล็กกล้าไร้สนิม ถังหมักแบบนี้อาจฆ่าเชื้อได้โดยการผ่านไอน้ำเข้าไป ขนาดของภาชนะแก้วต้องมีเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 30 ซม. ซึ่งถ้าใหญ่เกินกว่า 30 ซม. อาจทนแรงดันของไอน้ำไม่ได้

สำหรับวัสดุที่ใช้ในการทำถังหมักขนาดโรงงานต้นแบบจะต้องทนทานต่อการฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำภายใต้ความดันได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้นจะต้องไม่ผุกร่อน ในบางกรณีถังหมักอาจทำด้วยเหล็กอ่อนแล้วบุผิวด้วยแก้วหรือสารฟีนอลิกอีพอกซี (phenolic epoxy)

ตามปกติถังหมักจะต้องมีอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย ซึ่งอุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมินี้จะมีผลต่อการออกแบบรูปร่างของถังหมักด้วย ความร้อนที่เกิดขึ้นในถังหมักจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์และการเคลื่อนไหวของเครื่องกวน ถ้าความร้อนที่เกิดขึ้นน้อยเกินไปก็จะต้องเพิ่มความร้อนให้แก่ถังหมัก แต่ถ้าความร้อนเกิดขึ้นมากเกินไปก็จะต้องมีการระบายความร้อน เพื่อให้อุณหภูมิลดลงอยู่ในระดับที่เหมาะสม สำหรับการเจริญของจุลินทรีย์หรือการผลิตสารของจุลินทรีย์เมื่อใช้ถังหมักขนาดเล็กเช่น ขนาดห้องปฏิบัติการ ความร้อนที่เกิดขึ้นจะมีน้อยจึงต้องเพิ่มความร้อนให้แก่ถังหมัก โดยแช่ถังหมักใน Water bath ในกรณีถังหมักขนาดใหญ่เช่นที่ใช้ในการผลิตมักจะเกิดความร้อนมากเกินไป ซึ่งจะต้องมีอุปกรณ์ระบายความร้อนซึ่งอาจใช้วิธีหุ้มไว้ภายนอกถังหมัก (Jacket) หรือใช้ท่อระบายความร้อนซึ่งมีการไหลเวียนของน้ำเย็นอุณหภูมิและปริมาณของน้ำเย็นที่ไหลเวียนผ่านถังหมักจะสามารถลดอุณหภูมิของถังหมักลงมาอยู่ในระดับที่ต้องการได้ ถังหมักขนาด 500 ลิตร มักใช้วิธีหุ้มไว้ภายนอก สำหรับถังหมักขนาดใหญ่มักใช้ระบบท่อภายใน

อุปกรณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับถังหมัก

การทำงานของถังหมักจะต้องมีอุปกรณ์อื่นๆ ช่วยให้ถังหมักทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและควบคุมสภาวะภายในถังหมักให้เหมาะสม โดยอุปกรณ์ต่างๆ จะติดต่อกับถังหมักด้วยระบบท่อ เพื่อช่วยในการป้องกันการปนเปื้อนของถังหมักพร้อมอุปกรณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของถังหมัก อุปกรณ์เหล่านี้ได้แก่ (Scragg,1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. เครื่องกวน

เครื่องกวนประกอบด้วยมอเตอร์ที่ใช้หมุนใบพัด (Impeller) ซึ่งติดตั้งอยู่บนแกนซึ่งอยู่ตรงกลางของถังหมัก จำนวนใบพัดอาจมีมากกว่า 1 อัน ขึ้นอยู่กับความสูงของถังหมัก การทำงานของเครื่องกวนจะใช้กำลังงาน 0.9 แรงม้าต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 แกลลอน การกวนจะช่วยให้เซลล์จุลินทรีย์กระจายอยู่ในอาหารเหลวอย่างสม่ำเสมอ และช่วยตีฟองอากาศให้แตกเป็นฟองเล็กๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการแลกเปลี่ยนแก๊ส

การหมุนของใบพัดจะทำให้ของเหลวหมุนไปตามใบพัดและทำให้เกิดวอร์เทค (Vortex) ซึ่งการเคลื่อนที่ของของเหลวในลักษณะนี้ จะไม่ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงแต่หมุนตามกันไป วิธีแก้ไขทำโดยติดตั้งแผ่นโลหะ 4 ชิ้น ไว้ในแนวตั้งของถังหมัก โครงสร้างนี้เรียกว่า แบฟเฟิล (Baffle) แบฟเฟิลมักมีขนาดประมาณ 1/10 ของเส้นผ่าศูนย์กลางของถังหมัก การติดตั้งแบฟเฟิลควรมีช่องว่างระหว่างแบฟเฟิลกับผนังของถังหมัก ซึ่งจะทำให้ของเหลวเคลื่อนที่แบบที่ทำความสะอาดแบฟเฟิลไปในตัว ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเกาะติดกับแบฟเฟิลได้ ถังหมักขนาด 10,000 ลิตร ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 150 ซม. ใช้แบฟเฟิลที่มีขนาดกว้าง 10 ซม. จำนวน 4 ชิ้น โดยติดตั้งให้ห่างผนังของถังหมัก 3.5 ซม. ตัวอย่างอีกตัวอย่างหนึ่งคือ ถังหมักขนาด 300 ลิตร ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 51 ซม. ติดตั้งแบฟเฟิลของเหลวจะผสมกันอย่างทั่วถึงโดยไม่เกิดวอร์เทค ซึ่งจะทำให้ออกซิเจนละลายในของเหลวได้มากขึ้นด้วย

ข. เครื่องให้อากาศ

การให้ออกซิเจนแก่เชื้อ ในอุตสาหกรรมวิธีที่ประหยัด คือ ให้ในรูปอากาศ วิธีให้อากาศทำได้หลายวิธีขึ้นอยู่กับขนาดของภาชนะเลี้ยงเชื้อ ดังนี้

1) ขวดรูปชมพู่ 250-500 มิลลิลิตร บรรจุอาหารเหลว 50-100 มิลลิลิตร ใช้วิธีเขย่าซึ่งอาจติดตั้งไว้ในห้องหรือตู้ที่ควบคุมอุณหภูมิได้
2) ขนาดโรงงานต้นแบบและโรงงานผลิต ใช้เครื่องกวนพร้อมกับการให้อากาศโดยเครื่องปั๊มอากาศ ถังหมักระดับห้องปฏิบัติการปริมาตร 1 ลิตรก็ใช้ระบบเครื่องกวน (ใช้เครื่องกวนระบบแม่เหล็กเนื่องจากของเหลวปริมาณน้อย) และเครื่องปั๊มอากาศเพราะสามารถควบคุมการให้อากาศในปริมาณต่างๆ ได้

เครื่องให้อากาศประกอบด้วย

1) เครื่องปั๊มอากาศ (Air pump)
2) เครื่องกรองอากาศ (Air filter) อากาศที่จ่ายให้กับถังหมักควรเป็นอากาศที่ปราศจากเชื้อ วิธีฆ่าเชื้อในอากาศที่ใช้ในอุตสาหกรรมมี 3 วิธีคือ ใช้ความร้อน การกรองผ่านวัสดุจำพวกเส้นใยและการกรองผ่านวัสดุพวกเป็นเม็ด วิธีใช้ความร้อนจะเสียค่าใช้จ่ายมากจึงไม่ใช้ในการผลิตจริงๆ

เครื่องกรองอากาศควรมีคุณสมบัติเหล่านี้คือ กำจัดจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ราคาถูก แข็งแรง และไม่ทำให้ความดันอากาศลดลงมาก อากาศที่จะผ่านเครื่องกรองอากาศ จะต้องกำจัด

ความชื้นเสียก่อนเพราะเส้นใยจะอิ่มตัวด้วยความชื้นในอากาศอย่างรวดเร็ว ละอองความชื้นจะถูกแรงดันอากาศเป่าผ่านเครื่องกรองอากาศ ในละอองน้ำจะมีเชื้อเสมอซึ่งจะทำให้เกิดการปนเปื้อนในกระบวนการหมัก การกำจัดความชื้นในอากาศใช้วิธีทำให้อากาศเย็นลงความชื้นจะจับตัวเป็นหยดน้ำ หลังจากนั้นทำให้อากาศร้อนขึ้น แล้วจึงให้ผ่านเครื่องกรองอากาศแล้วจ่ายให้ถังหมัก

3) หัวจ่ายอากาศ (Sparger) หัวจ่ายอากาศ เป็นปลายสุดของระบบจ่ายอากาศให้แก่ถังหมัก ในการออกแบบหัวจ่ายอากาศจะต้องรู้ว่าจะใช้หัวจ่ายอากาศเพียงอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับเครื่องกวน หัวจ่ายอากาศแบ่งได้เป็น 3 แบบ คือ Porous sparger, Orifice sparger และ Nozzle sparger

3.1 Porous sparger หัวจ่ายอากาศแบบนี้ทำด้วย Sintered glass, ceramics หรือโลหะ อากาศจะออกจากรูเล็กจำนวนมากของหัวจ่าย หัวจ่ายแบบนี้ใช้กับถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ โดยไม่ต้องใช้เครื่องกวน เนื่องจากรูหัวจ่ายมีขนาดเล็กมากจึงทำให้ความดันอากาศลดลงมากและยังเกิดการอุดตันได้ง่ายเนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์

3.2 Orifice sparger หัวจ่ายอากาศแบบนี้เป็นท่อโลหะและเจาะรูหลายรูให้อากาศผ่านออก ถ้าเจาะรูขนาดเล็กก็ได้ฟองอากาศขนาดเล็ก ซึ่งช่วยในการแลกเปลี่ยนแก๊สได้ดี แต่มีข้อเสียคือสิ้นเปลืองพลังงานมากและเกิดการอุดตันได้ง่าย รูขนาดเล็กที่สุดที่ใช้คือ 0.375 มม. (1/64 นิ้ว) ในกรณีที่เชื้อเป็นแบคทีเรีย ในการเลี้ยงเชื้อราจะใช้รูขนาดใหญ่ เช่น 6 มม. เพื่อป้องกันการอุดตันจากเส้นใยของเชื้อรา

3.3 Nozzle sparger ถังหมักสมัยใหม่ที่มีเครื่องกวน จะใช้หัวจ่ายอากาศที่มีรูเปิดที่ปลายท่อเพียงรูเดียว ซึ่งเรียกว่าแบบ Nozzle หัวจ่ายอากาศจะติดตั้งอยู่ตรงจุดศูนย์กลางใต้ใบพัดเครื่องกวนและให้อยู่ห่างจากใบพัดมากที่สุดเท่าที่จะมากได้ หัวจ่ายอากาศแบบ Nozzle นี้แรงดันอากาศจะลดลงน้อย ซึ่งไม่เปลืองพลังงานและไม่ค่อยเกิดการอุดตัน

ปริมาณอากาศที่จ่ายให้แก่ถังหมักมีหน่วยเรียกเป็น vvm ปริมาณอากาศ 1vvm ที่จ่ายให้แก่ถังหมักที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบรรจุอยู่ 5 ลิตร คือปริมาณอากาศ 5 ลิตรต่อนาที ปกติปริมาณอากาศมากที่สุดที่จ่ายให้แก่ถังหมักคือ 1vvm

ค. เครื่องควบคุมอุณหภูมิ

ในอุตสาหกรรมการหมัก มีความจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อให้คงที่ในระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อที่ใช้ เครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิใช้เทอร์โมมิเตอร์ชนิดต่างๆ แล้วแต่ความเหมาะสม เช่น Mercury-in-glass thermometers, bimetallic thermometers, pressure bulb thermometers, thermocouples, metal-resistance thermometers หรือ thermistors

การควบคุมอุณหภูมิของถังหมักขนาดเล็กมักต้องใช้ทั้งความร้อนและการระบายความร้อนควบคู่กัน แต่ในถังหมักขนาดใหญ่การเจริญของจุลินทรีย์จำนวนมากจะทำให้เกิดความร้อนขึ้นมาก การควบคุมอุณหภูมิจึงใช้การระบายความร้อนด้วยน้ำเย็นเพียงอย่างเดียวโดยหมุนเวียนน้ำเย็นเข้าไป ในบางกรณีเชื้อที่ใช้ทำให้เกิดความร้อนมาก น้ำที่ใช้อาจใช้น้ำเกลือแทนเพื่อให้น้ำมีอุณหภูมิต่ำ

ลง ซึ่งจะช่วยระบายความร้อนได้ดียิ่งขึ้น ความสามารถในการควบคุมอุณหภูมิของระบบนี้จะอยู่ในระดับ ± 0.1 องศาเซลเซียส

ง. เครื่องมือควบคุมความเป็นกรดด่าง

ในการเลี้ยงเชื้อแบบแบช ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเปลี่ยนแปลงไปจากค่าที่เหมาะสมซึ่งทำให้เชื้อเจริญช้าลงหรือผลิตสารที่ต้องการได้น้อยลง ในกระบวนการผลิตจึงมีความจำเป็นต้องควบคุมค่าพีเอชให้คงที่พอสมควร การควบคุมให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงช้าลงทำได้โดยการใช้สารอาหารที่เหมาะสม โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน หรือการใช้บัฟเฟอร์ช่วย การควบคุมพีเอชของถังหมักขนาดใหญ่ใช้วิธีเติมแอมโมเนีย หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อแก้การเป็นกรด หรือการเติมกรดซัลฟิวริกเพื่อแก้การเป็นด่าง โดยปกติการเปลี่ยนแปลงพีเอชของกระบวนการหมักใดๆ จะเปลี่ยนในทิศทางเดียวเท่านั้น

การวัดค่าพีเอชในอุตสาหกรรมหมักใช้ Combined Glass Reference Electrode ซึ่งสามารถทนต่อการฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส อิเล็กโทรดอาจเป็นแบบ Silver/silver chloride ที่มีโพแทสเซียมคลอไรด์เป็นอิเล็กโทรไลท์ ในบางกรณีอาจใช้ Calomel/mercury electrode การควบคุมค่า พีเอช ทำโดยการทำงานของเครื่องวัดพีเอช คู่กับ Controller และถ้าต้องการบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่า พีเอช ก็ทำได้โดยการใช้เครื่องบันทึก (Recorder) ต่อเข้ากับเครื่องวัดพีเอช เครื่องควบคุมพีเอช อาจเป็นแบบง่ายๆ เช่นระบบ เปิด/ปิด (on/off) การทำงานของเครื่องควบคุม ทำโดยตั้งค่าพีเอชที่ต้องการไว้ เมื่อค่าพีเอชเปลี่ยนไปจากค่าที่ตั้งไว้จะมีสัญญาณกระตุ้นปั๊มให้ทำงานปั๊มกรด หรือด่างลงสู่ถังหมัก ปั๊มจะทำงานในช่วงเวลาสั้นๆ ประมาณ 0-5 วินาที โดยการควบคุมของนาฬิกาตั้งเวลา (Process timer) หลังจากนั้นเครื่องผสมจะทำงานเป็นเวลา 0-60 วินาที ในช่วงผสมนี้จะไม่มีการเติมกรดหรือด่างลงไปอีก หลังจากมีการผสมของอาหารเรียบร้อยแล้ว เครื่องวัดพีเอช จึงจะทำงานอ่านค่าพีเอช ว่าอยู่ในระดับที่ต้องการหรือไม่ ถ้ายังไม่อยู่ในระดับที่ต้องการเครื่องปั๊มก็จะทำงานอีกครั้ง

จ. เครื่องกำจัดฟอง

ในกระบวนการหมักส่วนใหญ่จะเกิดฟองเนื่องจากการให้อากาศและการกวน ฟองเกิดขึ้นจากโปรตีนที่รอยต่อระหว่างของเหลวกับอากาศเปลี่ยนสภาพ (denature) เป็นผิวที่แตกตัวยาก อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบมากจะเกิดฟองมากกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลมาก ถ้ากระบวนการหมักไม่เคยมีปัญหาเรื่องฟองแล้วเกิดฟองขึ้นจะเป็นเครื่องบ่งว่าเกิดการเจริญของเชื้อปนเปื้อนขึ้น ในการหมักถ้าเกิดฟองมากจนล้นขึ้นมาจากถังหมักจะทำให้เกิดความเสียหาย คือ สูญเสียอาหารเลี้ยงเชื้อและที่เสียหายมากคือจะเกิดการปนเปื้อนตามมา ในกรณีที่เกิดฟองไม่มากจนถึงกับล้นถังหมักฟองที่เกิดขึ้น จะทำให้การแลกเปลี่ยนแก๊สมีประสิทธิภาพลดลงเพราะอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนที่เป็นของเหลวจะไม่มีพื้นผิวสัมผัสกับอากาศ การควบคุมการเกิดฟองทำได้โดยเติมสารกำจัด

ฟอง (Antifoam) สารกำจัดฟองลดแรงตึงผิวของฟองทำให้ฟองแตกง่าย ตัวสารกำจัดฟองเองไม่สามารถเกิดเป็นฟองที่ถาวรได้ สารกำจัดฟองที่ดีควรมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

1) กระจายตัวได้รวดเร็ว และทำลายฟองได้อย่างรวดเร็ว
2) ทำลายฟองได้ดีถึงแม้จะใช้ปริมาณน้อย
3) สามารถป้องกันไม่ให้เกิดฟองได้นาน
4) ไม่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์
5) ไม่เป็นพิษต่อคนและสัตว์
6) ไม่รบกวนสารสกัดผลผลิต
7) ไม่เป็นอันตรายในการเก็บรักษา
8) ราคาถูก
9) ไม่รบกวนการแลกเปลี่ยนออกซิเจน
10) ทนความร้อนคือสามารถทำให้ปลอดเชื้อได้โดยใช้ความร้อน

สารเคมีที่ใช้เป็นสารกำจัดฟองและใช้ในกระบวนการหมักต่างๆ กันมีดังนี้

1) แอลกอฮอล์ เช่น สเตียริล (steary) และ ออกทิล ดีคานอล (octyl decanol)
2) เอสเทอร์
3) กรดไขมัน และ อนุพันธ์ เช่น กลีเซอไรด์ (glycerides) น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันลินซีด (Linseed) น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะกอก น้ำมันคาสเตอร์ (Castor)
4) ซิลิโคน
5) ซัลโฟเนต
6) สารอื่นๆ เช่น อัลคาเทรด ซี (Alkaterge C) ออกซาซาลีน (oxazaline) โพลีโพรพิวลีนไกลคอล (polypropylene glycol)

การเติมสารกำจัดฟองจะทำก็ต่อเมื่อมีฟองเกิดขึ้นมาก ในบางกรณีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตสามารถย่อยสลายสารกำจัดฟองได้ ในบางกรณีสารกำจัดฟองทำให้อัตราการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลงและอาจมากถึง 50% การใช้สารกำจัดฟองจึงต้องใช้ในปริมาณน้อยที่สุดเท่าที่จำเป็น ถ้าอัตราการแลกเปลี่ยนออกซิเจนลดลงมากอาจต้องใช้เครื่องกำจัดฟองช่วย เครื่องกำจัดฟองอาจทำด้วยเส้นลวดติดตั้งไว้ที่แกนเครื่องกวนบริเวณเหนือส่วนที่เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อภายในถังหมัก

การเก็บตัวอย่าง

ในช่วงเวลาระหว่างการหมักมีความจำเป็นต้องเก็บตัวอย่าง เพื่อนำมาวิเคราะห์ว่ากระบวนการผลิตเป็นไปอย่างถูกต้องหรือไม่ ตัวอย่างของเหลวที่เก็บมาจากถังหมักจะนำมาทดสอบหาค่าต่างๆ เช่น

1) วิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์
2) วิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตซึ่งอาจเป็นวิตามิน กรดอะมิโนและอื่นๆ

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) วิเคราะห์หาปริมาณแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน หรือสารเคมีอื่นๆ ที่สำคัญต่อกระบวนการผลิตนั้นๆ

4) นับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิต

5) ตรวจวิเคราะห์และนับจำนวนเชื้อปนเปื้อน

ค่าอื่นๆ ที่มีเครื่องมือวัดได้จะติดตั้งอยู่กับถังหมัก และสามารถตรวจสอบค่าเหล่านี้ได้ตลอดเวลาเช่น

1) ค่าพีเอช

2) อุณหภูมิ

3) ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในของเหลว

ในการเก็บตัวอย่างจะต้องไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนซึ่งในถังหมักระดับอุตสาหกรรมจะใช้ระบบท่อซึ่งสามารถฆ่าเชื้อได้ด้วยไอน้ำหลังการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง

2.8 ความสำคัญของกรดแลคติกต่อระบบอุตสาหกรรม (Holland และคณะ,1986 ; Marshall,1987 และ Penning,1989)

กรดแลคติกมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมหลายด้าน ได้แก่ อุตสาหกรรมอาหาร โดยเป็นสารถนอมอาหาร สารทำให้เกิดรสเปรี้ยวหรือเป็นตัวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเพื่อให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ ด้านอุตสาหกรรมเครื่องสำอางหรือยารักษาโรค เช่นยาฆ่าเชื้อเฉพาะที่หรือในด้านอุตสาหกรรมพลาสติก เช่น การผลิตโพลีเลคไตด์ (polylactide) หรือโพลีแลคติกแอซิด ซึ่งเป็นพลาสติกที่สามารถย่อยสลายได้ และอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ โดยจะใช้แบคทีเรียแลคติกเป็น probiotic ในอาหารสัตว์ โดย probiotic เป็นวัตถุที่เติมในอาหารสัตว์

ประโยชน์ของการใช้ probiotic

1. ใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตแทนสารปฏิชีวนะและเคมีภัณฑ์ ซึ่งอาจประสบปัญหาสารตกค้างหรือการดื้อยา
2. ช่วยให้ระบบย่อยอาหารดีขึ้นเนื่องจากการสร้างเอนไซม์ เช่น แล็กแทสและ อะไมเลสเป็นต้น
3. ช่วยป้องกันโรคต่างๆ เนื่องจาก

3.1 probiotic ทำให้สัตว์มีภูมิคุ้มกันสูง

3.2 ลดการเกิดโรคท้องเสียเนื่องจาก probiotic เข้าไปเจริญและก่อตัวที่ผิวทางเดินอาหารเป็นผลทำให้จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งสัตว์ได้รับเข้าไปเมื่อเจริญเติบโตจะเกาะที่ผนังลำไส้ได้ยากมากขึ้น

3.3 ป้องกันพิษของเอมีน (amine) และแก๊สแอมโมเนีย ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระคายเคืองและเป็นพิษเพิ่มการบีบตัวของลำไส้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ยับยั้งการสร้างคลอเลสเตอรอล

3.5 ยับยั้งหรือป้องกันการเกิดเนื้องอก โดย probiotic จะช่วยยับยั้งการสร้างเซลล์เนื้องอก และลดการสร้างน้ำย่อยที่ใช้ในการสร้างสารไนโตรซามีน

probiotic ยังเป็นทางเลือกใหม่สำหรับอุตสาหกรรมอาหารสัตว์และการเลี้ยงสัตว์ การใช้ probiotic ตั้งแต่สัตว์วัยอ่อนจะช่วยให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสมดุล สัตว์แข็งแรงไม่ป่วย และลดการใช้ยา แก้ไขปัญหายาสัตว์ตกค้างในเนื้อและผลิตภัณฑ์สัตว์ เนื่องจาก probiotic เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เป็นประโยชน์จึงเหมาะสมสำหรับการผสมอาหารสัตว์ และสัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียแลคติกสามารถใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 เชื้อแบคทีเรีย

Lactobacillus casei subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* จากศูนย์เก็บรักษาและรวบรวมข้อมูลจุลินทรีย์ สถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

3.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ

-MRS สำเร็จรูป(in deMan, Rogosa and Sharpe)

-MRS สูตรดัดแปลง

-GYP

-GYP-$CaCO_3$

-GS

-MEA

3.2.2 สารเคมี

- บรอมไทมอลบลู (Bromthymol blue)

- นิวทรัลเรด (Neutral red)

-เอทานอล

-โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ของ Merck Co.,Ltd.

-ฟีนอล (C_6H_5OH)ของ Farmitalia carloerba

-4 อะมิโนแอนติไพริน ($C_{11}H_{13}N_3O$) ของ Sigma Chemical Co.,Ltd.

-โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตเฮบตะไฮเดรต ($Na_2HPO_4.7H_2O$) ของ Merck Co.,Ltd.

-โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตโมโนไฮเดรต ($NaH_2PO_4.H_2O$) ของ Merck Co.,Ltd.

-กลูโคสออกซิเดส ของ Sigma Chemical Co.,Ltd

-กลูโคสเปอร์ออกซิเดส ของ Sigma Chemical Co.,Ltd

เอกสารนี้ฟีนอลสามารถใช้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 อุปกรณ์

-อุปกรณ์และเครื่องแก้วต่างๆ

-หม้อนึ่งอัดไอ (autoclave) รุ่น SS-320 ของ Tomy

-ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (shaking incubator) รุ่น Gallen Kamp

-เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น HM-7E ของ TOA Electronics

-เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) รุ่น ZK380 ของ CHERMLE

-สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectophotometer) รุ่น 8620 ของ UNICAM

-กล้องจุลทรรศน์ (bright-field microscope) รุ่น YS2-H ของ Nikon

-ตู้อบ (hot air oven) รุ่น UL30 ของ Memmert

-เครื่องชั่งแบบหยาบ รุ่น PG 5002 ของ Mettler Toledo

-เครื่องชั่งแบบละเอียด รุ่น AT 200 ของ Mettler Toledo

-ถังหมัก (fermentor)

3.3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย

นำเซลล์ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ที่อยู่ในสภาพ lyophilize ในหลอดแก้วมาเลี้ยงใน MRS broth และ MRS agar เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นนำเซลล์ทั้ง 2 ชนิดมาศึกษารูปร่างและลักษณะต่างๆแล้วเก็บไว้เป็น stock culture เพื่อศึกษาต่อไป

3.3.2 การศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในระดับฟลาสก์

3.3.2.1 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร 6 ชนิด

บรรจุอาหารสูตรต่างๆ(ภาคผนวก ก) ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปให้มีปริมาตรเริ่มต้นเป็น 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ควบคุมสภาวะการเลี้ยงเชื้อ 2 แบบคือ สภาวะที่มีการเขย่าใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที และสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต โดยเก็บตัวอย่างทุก12 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.2 การหาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ

นำอาหารที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.3.2.1 และเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสให้มีความเข้มข้น 1 , 2 , 5 , 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นบรรจุอาหารลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปให้มีปริมาตรเริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ควบคุมสภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.3.2.1

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

3.3.3 การศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกที่เหมาะสมในระดับถังหมักแบบแบช

3.3.3.1 ขั้นตอนการเตรียมถังหมัก

3.3.3.1.1 ปรับค่าพีเอชโดยปรับค่าที่สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.00 แล้วจึงปรับที่สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4.01 หลังจากนั้นจึงตั้งค่าพีเอชที่ต้องการ

3.3.3.1.2 เตรียมอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ปริมาตร 8 ลิตร

3.3.3.1.3 ใส่อาหารลงในถังหมัก ปิดส่วนบนของถังหมักให้เรียบร้อย

3.3.3.1.4 ปรับค่า DO-electrode ทำได้ดังนี้คือ 1) ปรับค่า DO ไปที่ 0 เปอร์เซ็นต์ออกซิเจน โดยใช้แก๊สไนโตรเจนเข้าไปแทนที่หรือปรับในระหว่างการฆ่าเชื้ออาหารเนื่องจากในสภาวะนี้ภายในถังหมักจะเป็นสุญญากาศหรือมีปริมาณออกซิเจนเข้าใกล้ศูนย์ 2) ปรับค่า DO ไปที่ 100 เปอร์เซ็นต์ออกซิเจน โดยจะเป่าอากาศเข้าสู่ถังหมักในสภาวะเดียวกับการทดลองจริง จนปริมาตรอากาศในถังหมักคงที่ จึงปรับค่าเป็น 100% ออกซิเจน

3.3.3.1.5 ฆ่าเชื้อโดยปรับไปที่ระบบฆ่าเชื้อแล้วตั้งอุณหภูมิสิ้นสุด ซึ่งในการทดลองได้ตั้งไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นระบบจะทำการฆ่าเชื้อโดยอัตโนมัติ เมื่อขั้นตอนการฆ่าเชื้อเสร็จอุณหภูมิจะลดลงจนถึงค่าที่ตั้งไว้คือ 37 องศาเซลเซียส

3.3.3.1.6 ใส่เชื้อเริ่มต้นลงไป ถ้ามีการควบคุมพีเอชจะต้องมีการเติมสารละลายกรด (10% H_2SO_4) และสารละลายด่าง (2M NaOH) ลงไป เพื่อควบคุมพีเอชให้คงที่

3.3.3.1.7 ตั้งค่าความเร็วรอบของใบพัด

3.3.3.1.8 ตรวจสอบระบบของถังหมักให้อยู่ในสภาพที่เรียบร้อยและสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการทดลอง

3.3.3.2 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ(O_2) ในระดับ 0 , 5 , 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

3.3.3.2.1 ในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ 0 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาระดับฟลาสก์ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาตร 8 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 37 องศาเซลเซียสจึงใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยควบคุมสภาวะในถังหมักคือ ความเร็วของใบพัด 10 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมพีเอช ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการให้อากาศ (O_2) เข้าไปโดยใช้แก๊สไนโตรเจน (N_2) เข้าไปแทนที่อากาศ (O_2)ตลอดการทดลอง

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

3.3.3.2.2 ในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ 5 , 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์

บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาระดับฟลาสก์ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาตร 8 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 37 องศาเซลเซียสจึงใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปปริมาณ 3เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยควบคุมสภาวะในถังหมักคือ ความเร็วของใบพัด 10 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมพีเอช ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมปริมาณอากาศให้อยู่ในระดับ 5 , 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

3.3.3.3 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีอุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส

บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาระดับฟลาสก์ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาณ 8 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาทีเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง 37 องศาเซลเซียสจึงใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยควบคุมสภาวะในถังหมักคือ ความเร็วของใบพัด 10 รอบต่อนาที ไม่มีการควบคุมพีเอช ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 และ 45 องศาเซลเซียสตามลำดับ และมีการควบคุมปริมาณอากาศให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาใน 3.3.3.2

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

3.3.3.4 เปรียบเทียบอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีการควบคุม และไม่มีการควบคุมพีเอช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุอาหารสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาระดับฟลาสก์ลงในถังหมักขนาด 15 ลิตร ปริมาตร 8 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 20 นาที เมื่ออุณหภูมิลดลงถึงระดับที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในข้อ 3.3.3.3 จึงใส่เชื้อบริสุทธิ์ที่เตรียมไว้ลงไปปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร โดยควบคุมสภาวะในถังหมักคือ ความเร็วของใบพัด 10 รอบต่อนาที มีการควบคุมพีเอชที่ 6 ควบคุมอุณหภูมิในช่วงที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้อ 3.3.3.3 และมีการควบคุมปริมาณอากาศ (O_2) ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในข้อ 3.3.3.2

วัดอัตราการเจริญของเชื้อโดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ ปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส และปริมาณกรดแลคติกโดยวิธีทางเคมี โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมงจนถึงระยะที่เซลล์เจริญสูงสุด

3.4 การวิเคราะห์

3.4.1 การวิเคราะห์หาค่า μ_{max} ได้จากสมการ (Scragg,1991)

$$\mu_{max} = \frac{\ln x - \ln x_o}{t - t_o}$$

x, x_o เป็นค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ที่กำลังเจริญอยู่ในระยะ log phase

t, t_o เป็นเวลา(ชั่วโมง) ของการเจริญของเชื้อของ x, x_o ตามลำดับ

3.4.2 การวิเคราะห์หาค่า $Y_{X/S}$ และ $Y_{P/S}$ ได้จากสมการ (Scragg,1991)

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S}$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S}$$

ΔX = ปริมาณของเซลล์ที่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาหนึ่ง

ΔP = ปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาหนึ่ง

ΔS = ปริมาณของสับสเตรทที่เปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การวิเคราะห์หาน้ำหนักแห้งของเซลล์

ทำการเก็บเกี่ยวเซลล์โดยการนำไปปั่นที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที ล้างตะกอนด้วยน้ำกลั่นประมาณ 3 ครั้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใส่ในเดซิเคเตอร์ 1 ชั่วโมงก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง

3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดโดยวิธีไทเทรต

นำน้ำหมักที่ได้ไปปั่นให้เซลล์ตกตะกอนแล้วดูดส่วนใส 4 มิลลิลิตร (ทำเทียบกับ blank ซึ่งเป็นอาหารที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ)ไทเทรตกับ 0.1 N NaOH โดยใช้สารละลาย Mixed indicator เป็นอินดิเคเตอร์ (ภาคผนวก ข) แล้วนำค่าที่ได้ (หน่วยเป็นมิลลิลิตร)มาคำนวณหาปริมาณกรด(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{ปริมาณกรด} = \frac{90\,[\text{ปริมาตรของ NaOH} - \text{ปริมาตรของ blank}]\,[\text{ความเข้มข้นของ NaOH}]}{\text{ปริมาณของตัวอย่าง}}$$

3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดแลคติกโดยวิธี Baker (1941)

การวิเคราะห์แบ่งเป็น 3 ขั้นตอน

ขั้นตอนที่ 1

นำสารละลายตัวอย่าง 1-5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง (ปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วง 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เติม 20 % $CuSO_4$ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เติม $Ca(OH)_2$ 0.25 กรัม ปิดหลอดทดลองด้วยพาราฟิน เขย่าแรงๆตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 30 นาที (เขย่าเป็นครั้งคราว)

ขั้นตอนที่ 2

นำสารละลายจากขั้นตอนที่ 1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (ปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วง 2-10ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย4 % $CuSO_4$ 0.05 มิลลิลิตร ทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำแข็งแล้วจึงนำมาเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นจากบิวเรตต์ ปริมาตร 6 มิลลิลิตร อย่างช้าๆ พร้อมกับเขย่าเบาๆ แล้วนำมาวางในน้ำเดือด 5 นาที รอให้เย็นแล้วจึงนำไปแช่ในน้ำแข็ง

ขั้นตอนที่3

เติมสารละลาย 1.5 % p-hydroxydiphenyl 0.1 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเขย่าแล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 30 นาที เขย่าเป็นครั้งคราวในระหว่างการตั้งทิ้งไว้ หลังจากนั้นนำไปใส่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 นาที 30 วินาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 560 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหากราฟมาตราฐานของกรดแลคติก

- เตรียมสารละลายให้มีความเข้มข้นของกรดแลคติก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่ง Zinc lactate 121.8 มิลลิกรัม ละลายน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 N จำนวน 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

- ทำเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นเป็น 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำมาผ่านขั้นตอนที่ 1 ถึง3 โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

- เขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแลคติก (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วหาปริมาณของกรดแลคติกในสารละลายตัวอย่าง โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบจากกราฟมาตราฐาน (ภาคผนวก ง)

3.4.6 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคสโดยใช้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดส (Kunst และคณะ,1984)

การหากราฟมาตราฐานของกลูโคส

- ละลายน้ำตาลที่บริสุทธิ์ในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร น้ำตาลที่ใช้เป็นน้ำตาลมาตราฐานควรเป็นน้ำตาลชนิดเดียวกับที่ต้องการทราบปริมาณในการวิเคราะห์นี้จะใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลมาตราฐาน

-ทำให้น้ำตาลเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ คือ 20 ,50, 100, 150, 200 และ 250ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

-นำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลโดยใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตราฐาน จำนวน 0.3 มิลลิลิตร เติม reagent mixture 3 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข) ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 505 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

การเตรียมตัวอย่าง

โดยใช้สารละลายตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตรจากนั้นทำการวิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์น้ำตาลใน standard curve และเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง กับกราฟมาตราฐาน (ดังภาคผนวก ง)และเขียนกราฟระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) แล้วหาปริมาณของน้ำตาลในสารละลายตัวอย่าง โดยนำค่าค่าการดูดกลืนแสง ที่วัดได้มาเทียบจากกราฟมาตราฐาน (ภาคผนวก ง)

3.4.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด(μ_{max})และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำข้อมูลในการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial Experiment in RCB (Randomized Complete Block) และ CRD (Complete Randomized Design) หลังจากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) (สนองและปัญญา,2536) และ T-Test (ชูศรี,2537)

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลของการศึกษารูปร่างและลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* และ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

เมื่อนำเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* และ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* (ภาพที่ 4.1 และ4.2) มาเลี้ยงใน MRS agar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วนำมาศึกษาลักษณะโคโลนีได้ผลดังนี้

Lactobacillus delbrueckii และ *Lactobacillus. casei* subsp. *rhamnosus*

-สีของโคโลนี	มีสีครีม
-ผิวหน้าของโคโลนี	เรียบ
-ความเลื่อมมันของโคโลนี	มีความเลื่อมมันมาก
-รูปร่างของโคโลนี	กลม ขอบเรียบ
-ลักษณะรูปร่างด้านตัด	แบน

เชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* มีลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology)เหมือนเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* แต่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้เร็วกว่า เชื้อทั้งสองสายพันธุ์ติดสีม่วง เป็นแกรมบวกมีลักษณะเป็นท่อนซึ่ง *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* มีลักษณะท่อนยาวและมีขนาดใหญ่กว่า *Lactobacillus delbrueckii*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.1 ลักษณะของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.2 ลักษณะของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS agar

4.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในระดับฟลาสก์

4.2.1 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารชนิดต่างๆที่สภาวะนิ่งและเขย่า

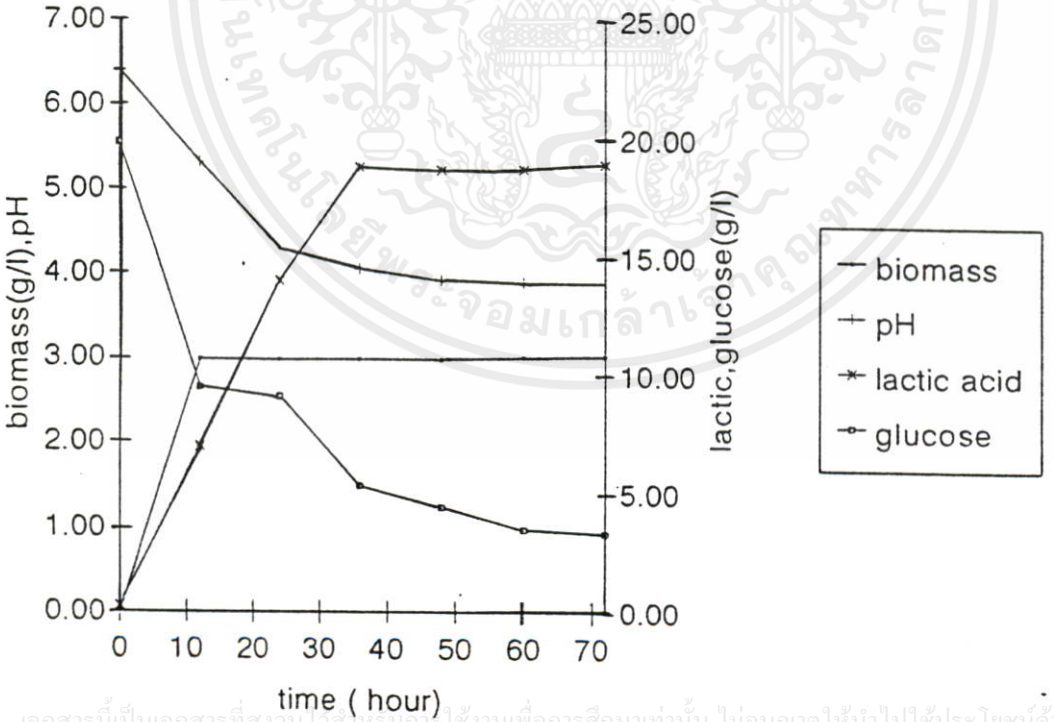
จากการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. rhamnosus ในอาหาร 6 ชนิดได้แก่ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ในสภาวะนิ่งได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.6และภาพที่ 4.3-4.8 พบว่า อาหาร MRS สูตรดัดแปลงจะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 72 คือ 3.06 กรัมต่อลิตร ในขณะที่อาหาร MRS สำเร็จรูปให้ค่าน้ำหนักแห้งในชั่วโมงที่ 72 คือ 3.03 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ จะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 1.38, 0.78, 0.79,และ0.64 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ส่วนการผลิตกรดแลคติกพบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปจะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุด ในชั่วโมงที่ 72 คือ 18.95 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดแลคติกเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ซึ่งใกล้เคียงกับอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่ให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 คือ 18.85 กรัมต่อลิตร โดยพบว่าปริมาณกรดแลคติกเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 ส่วนในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ จะมีปริมาณกรดแลคติกเพียงเล็กน้อยในชั่วโมงสุดท้าย (72 ชั่วโมง) คือ 5.72, 1.01, 0.89 และ 0.91 กรัมต่อลิตรตามลำดับ พบว่าปริมาณกรดแลคติกจะไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงมากนัก ซึ่งมีผลทำให้ค่าพีเอชไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย โดยในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ค่าพีเอชจะค่อนข้างคงที่ในชั่วโมงที่ 12 และมีค่าต่ำสุดในชั่วโมงที่ 72 คือ 4.98, 6.30, 6.30 และ 6.28 ตามลำดับ แต่ในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลงมีปริมาณกรดแลคติกสูงจึงทำให้ค่าพีเอชลดลงมาก ค่าพีเอชจะลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 60 คือ 3.90 และ 3.91 ตามลำดับ ในด้านของการใช้น้ำตาลกลูโคสพบว่าในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ปริมาณกลูโคสถูกใช้ไปไม่มาก ดังจะเห็นได้ว่าในชั่วโมงที่ 72 จะคงมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ 12.42, 17.88, 17.16 และ 17.61 กรัมต่อลิตรตามลำดับจากปริมาณเริ่มต้น 20 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลงจะมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่เพียง 3.17 และ 3.32 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเชื้อที่เจริญในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลงจะมีการใช้กลูโคสมากกว่าอาหารชนิดอื่นๆ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ดังตาราง ที่ 4.7 พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง จะมีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ แต่ละค่าใกล้เคียงกัน และมีสูงกว่าอาหารชนิดอื่น ซึ่งในอาหาร MRS สำเร็จรูป จะมีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 0.48 ต่อชั่วโมง 0.26 และ 0.64 กรัมต่อกรัมตามลำดับ อาหาร MRS สูตรดัดแปลง มีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ

$Y_{p/s}$ เท่ากับ 0.48 ต่อชั่วโมง 0.29 และ 0.64 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ส่วนในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ จะมีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ค่อนข้างต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ที่4.1 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.01	6.40	0.23	19.82
12	2.98	5.32	6.92	9.44
24	2.97	4.28	13.95	9.05
36	2.98	4.05	18.77	5.31
48	2.98	3.92	18.72	3.48
60	3.01	3.90	18.72	3.48
72	3.03	3.90	18.95	3.32

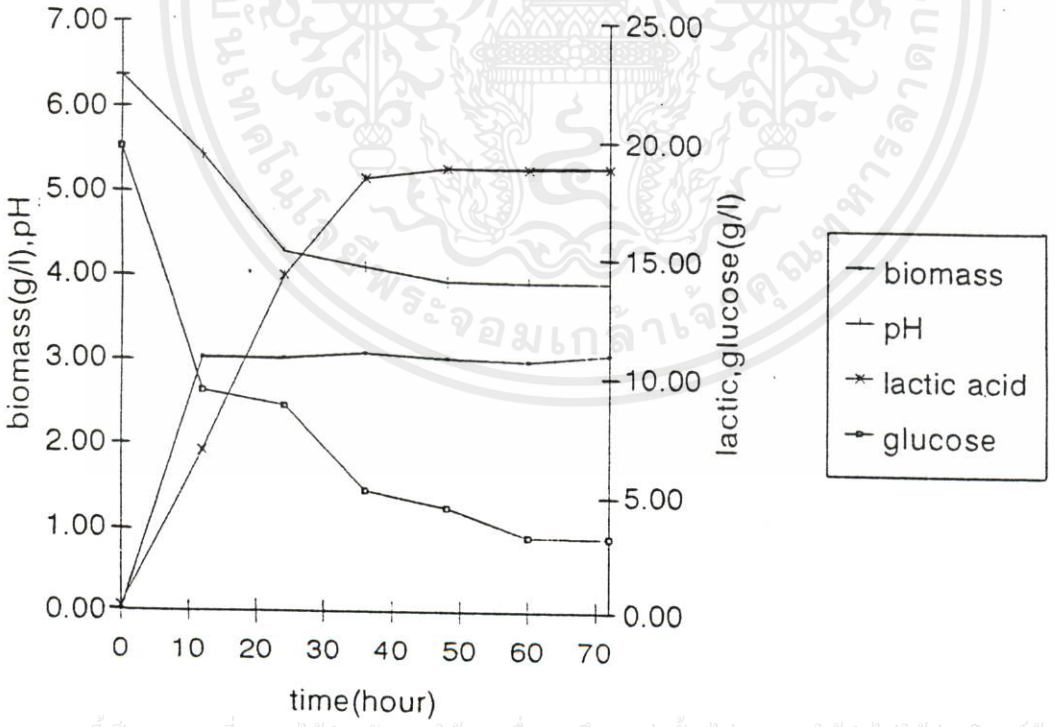


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.3 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.2 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.01	6.38	0.20	19.72
12	3.02	5.43	6.83	9.37
24	3.01	4.27	14.24	8.73
36	3.07	4.09	18.39	5.17
48	3.01	3.92	18.83	4.44
60	2.98	3.91	18.80	3.20
72	3.06	3.91	18.85	3.17

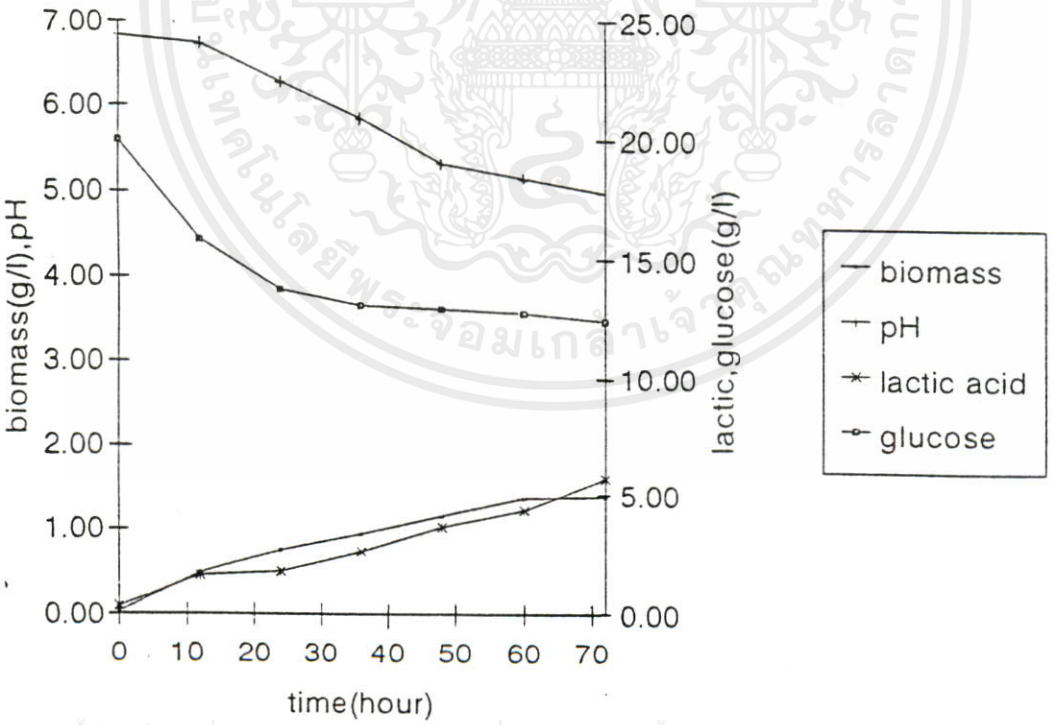


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.4 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.3 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.83	0.34	19.97
12	0.48	6.73	1.59	15.84
24	0.74	6.27	1.77	13.72
36	0.93	5.84	2.59	13.04
48	1.15	5.32	3.62	12.91
60	1.37	5.15	4.36	12.75
72	1.38	4.98	5.72	12.42

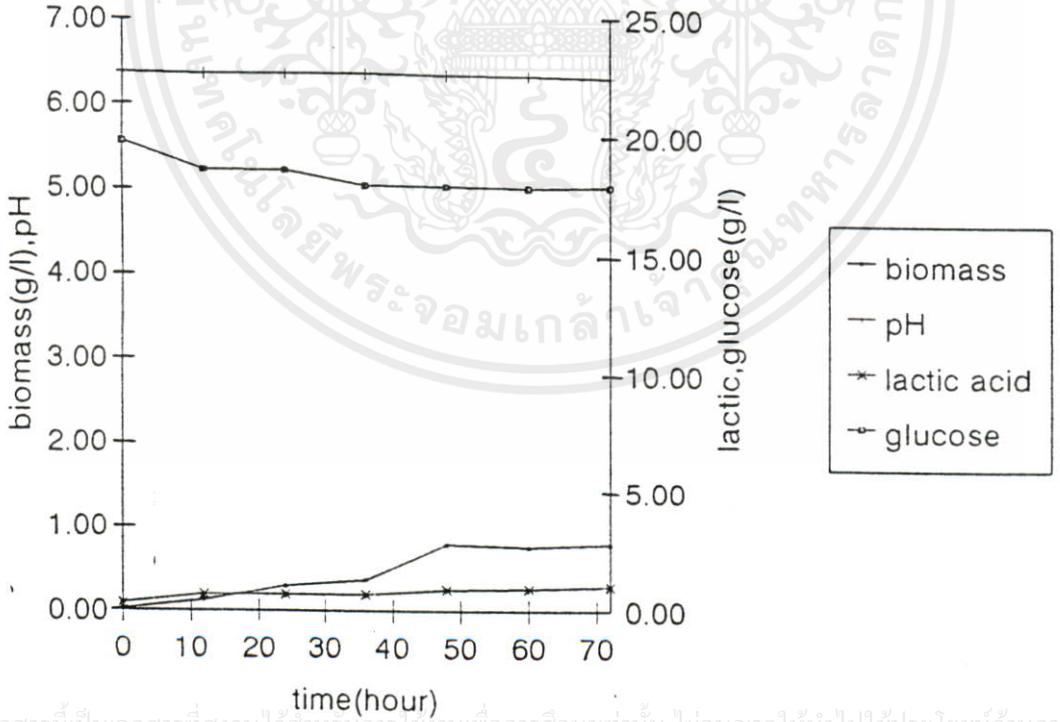


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.5 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.4 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.37	0.33	19.84
12	0.12	6.35	0.68	18.62
24	0.29	6.35	0.67	18.59
36	0.36	6.35	0.67	17.94
48	0.78	6.33	0.88	17.90
60	0.75	6.32	0.92	17.85
72	0.78	6.30	1.01	17.88

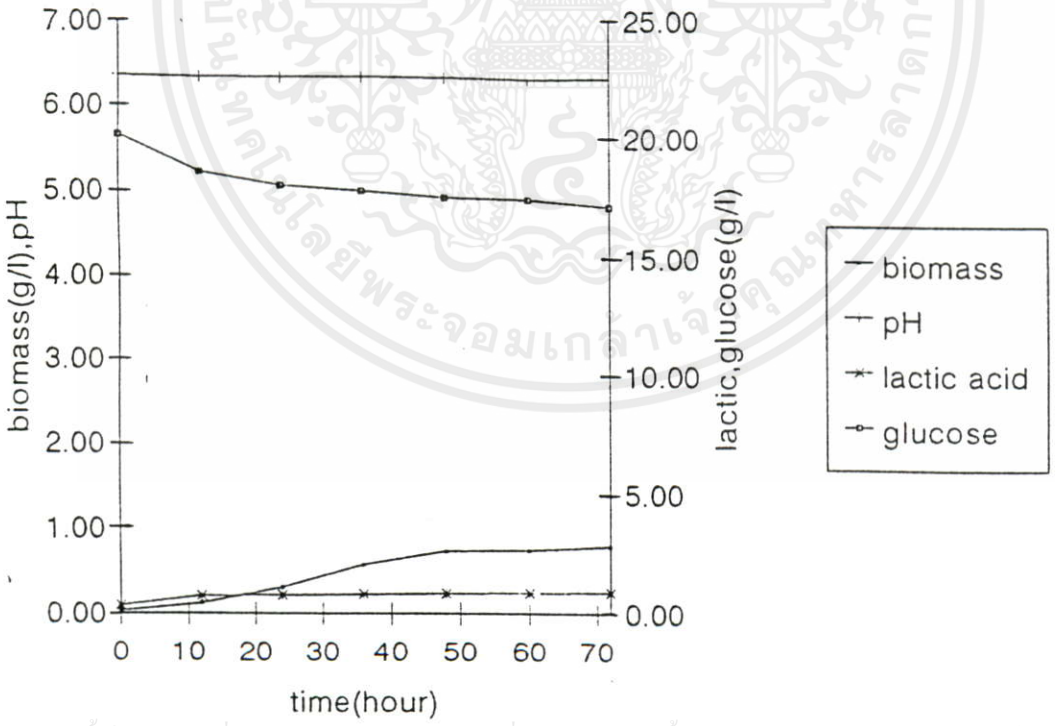


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.6 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.5 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.35	0.34	20.18
12	0.12	6.33	0.75	18.62
24	0.31	6.32	0.77	18.03
36	0.57	6.32	0.81	17.81
48	0.73	6.31	0.84	17.54
60	0.74	6.29	0.87	17.40
72	0.79	6.30	0.89	17.16

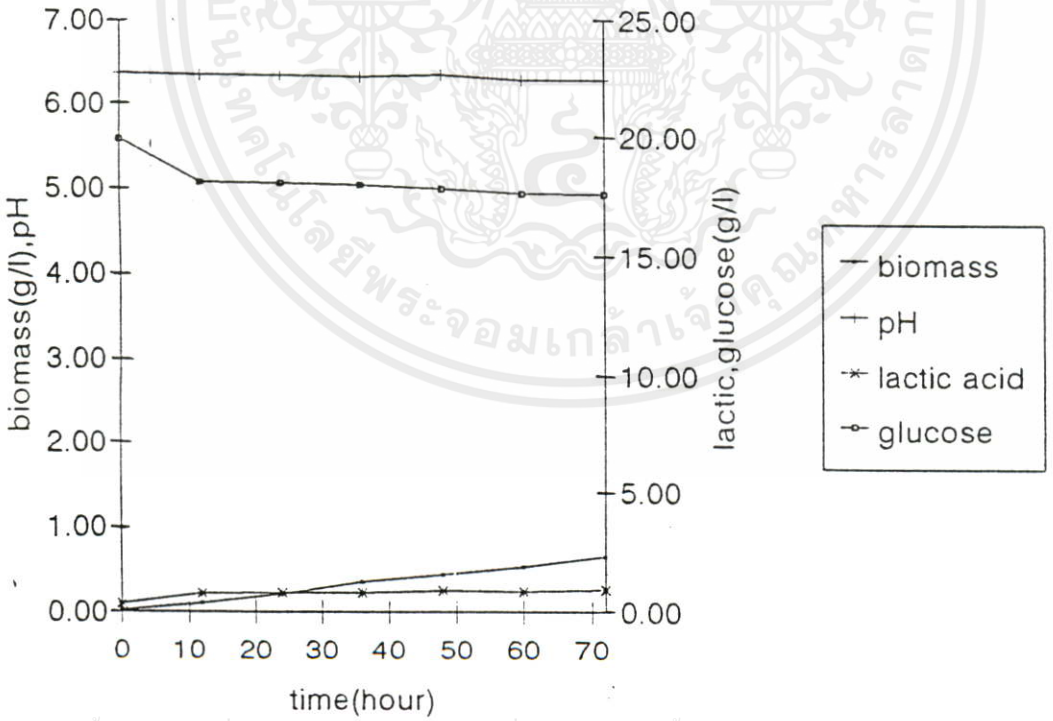


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.7 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.6 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.36	0.35	19.93
12	0.10	6.34	0.77	18.10
24	0.21	6.33	0.79	18.05
36	0.35	6.31	0.79	17.97
48	0.43	6.30	0.80	17.82
60	0.52	6.28	0.84	17.63
72	0.64	6.28	0.91	17.61



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.8 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง

ตารางที่ 4.7 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในสภาวะนิ่ง

สูตรอาหาร	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
MRS สำเร็จรูป	0.48	0.26	0.64
MRSสูตรดัดแปลง	0.48	0.29	0.64
GS	0.23	0.10	0.30
MEA	0.14	0.08	0.29
GYP	0.12	0.05	0.20
GYP-$CaCO_3$	0.13	0.04	0.22

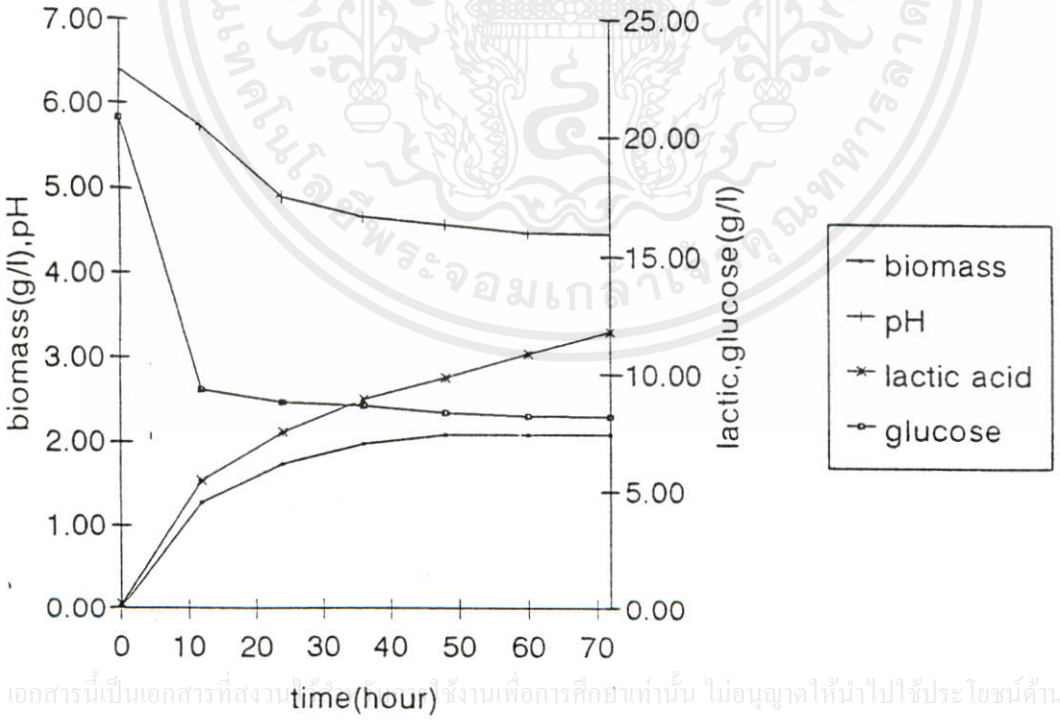
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร 6 ชนิดได้แก่ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ในสภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ได้ผลดังแสดงในตารางที่4.8-4.13และภาพที่ 4.9 และ 4.14 พบว่าอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง จะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากันคือ 2.08 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 และจะสูงกว่าอาหารชนิดอื่น และอาหารทั้ง 2 ชนิดจะมีค่าน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนปริมาณกรดแลคติกพบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปจะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 คือ 11.81 กรัมต่อลิตร และในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง คือ 10.02 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ จะให้ปริมาณกรดแลคติกต่ำมากคือ 4.53, 0.68, 0.72 และ 0.72 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ทำให้มีผลต่อค่าพีเอชของอาหารโดยค่าพีเอชจะมีค่าค่อนข้างคงที่ในชั่วโมงที่ 24 และมีค่าลดลงในชั่วโมงที่ 60 เป็น 5.43, 6.34, 6.31 และ 6.22 ตามลำดับ แต่ในอาหาร MRS สำเร็จรูปและ MRS สูตรดัดแปลงค่าพีเอชของอาหารจะลดลงมาก และค่าพีเอชจะลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 60 เป็น 4.47 และ 4.40 ตามลำดับ สำหรับการใช้น้ำตาลกลูโคสพบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลงมีปริมาณกลูโคสเหลือน้อยกว่าอาหารชนิดอื่น คือ 8.20 และ 8.35 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่ในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ปริมาณกลูโคสเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ซึ่งในชั่วโมงที่ 72 จะมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ 17.80 ,14.58, 17.39 และ 17.61 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูป มีค่าเท่ากับ 0.35 ต่อชั่วโมง 0.10 และ 0.45 กรัมต่อกรัมตามลำดับ และในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง จะมีค่า 0.34 ต่อชั่วโมง 0.13 และ 0.45 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.14 จะเห็นได้ว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง มีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ใกล้เคียงกันและมีค่าสูงกว่าอาหารชนิดอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.8 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.40	0.22	20.93
12	1.27	5.73	5.47	9.34
24	1.73	4.88	7.52	8.79
36	1.97	4.65	8.93	8.65
48	2.08	4.56	9.85	8.37
60	2.08	4.47	10.88	8.23
72	2.08	4.46	11.81	8.20

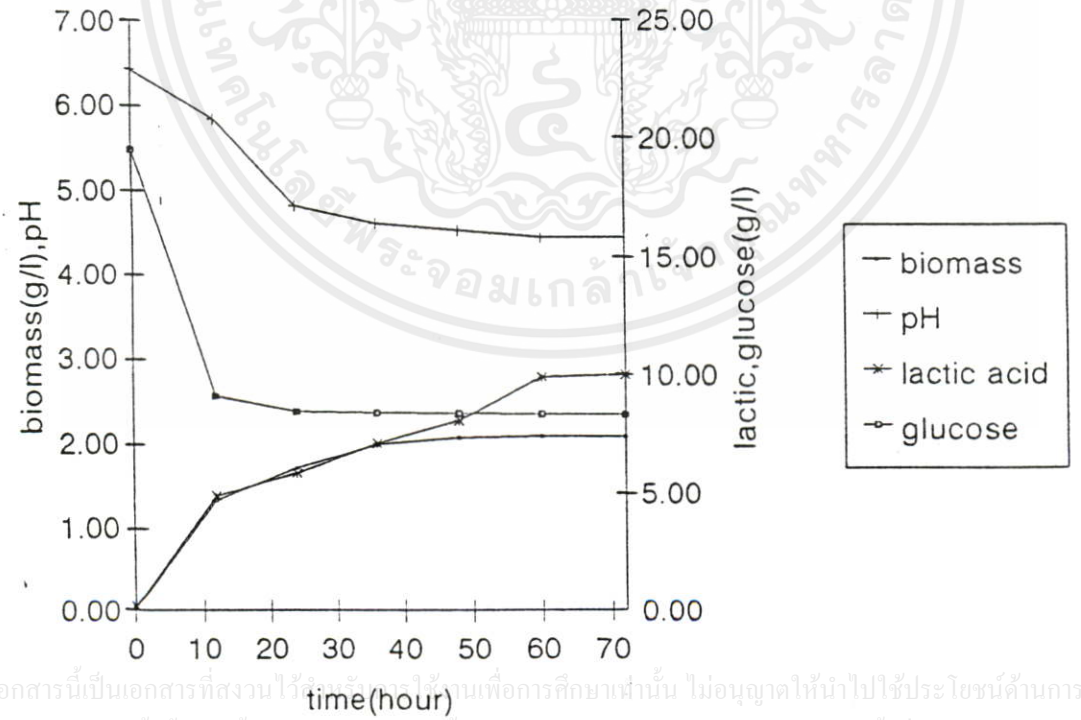


ภาพที่ 4.9 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.9 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.41	0.20	19.55
12	1.32	5.82	4.91	9.13
24	1.71	4.81	5.87	8.47
36	1.98	4.60	7.12	8.40
48	2.06	4.52	8.07	8.38
60	2.08	4.44	9.91	8.35
72	2.08	4.44	10.02	8.35

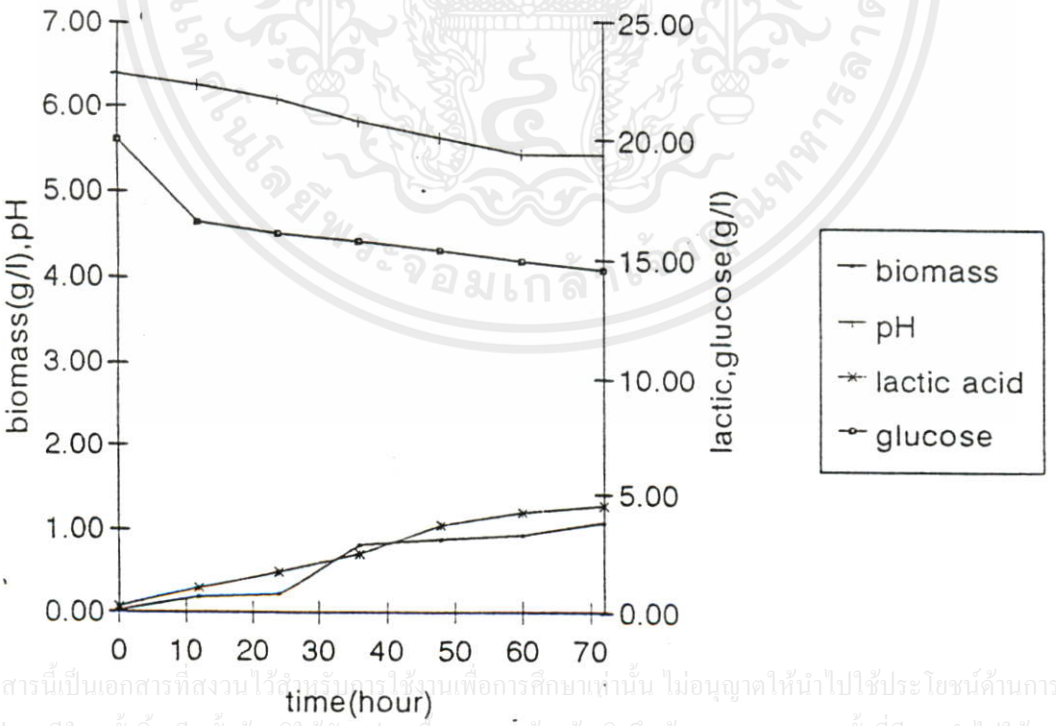


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.10 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า

ตารางที่4.10 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.38	0.23	20.02
12	0.18	6.25	1.08	16.55
24	0.22	6.08	1.77	16.07
36	0.81	5.81	2.51	15.74
48	0.87	5.60	3.69	15.36
60	0.92	5.43	4.23	14.93
72	1.07	5.22	4.53	14.58

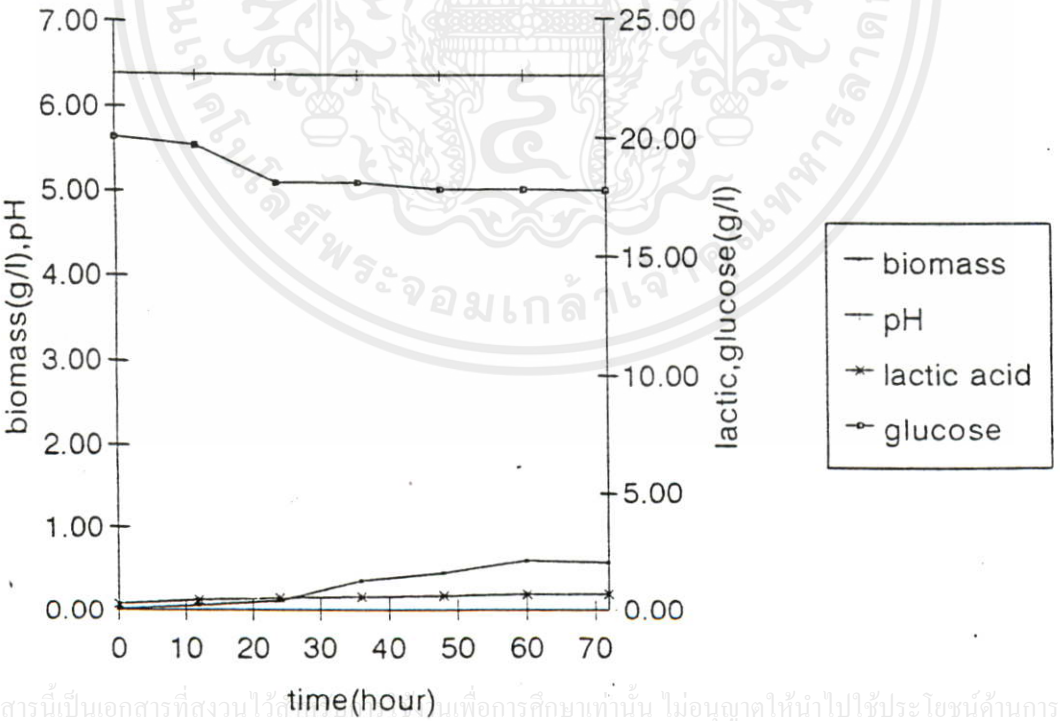


ภาพที่ 4.11 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.11 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.38	0.30	20.11
12	0.06	6.36	0.47	19.72
24	0.12	6.35	0.53	18.12
36	0.35	6.34	0.58	18.09
48	0.44	6.34	0.62	17.81
60	0.58	6.34	0.68	17.82
72	0.56	6.34	0.68	17.80

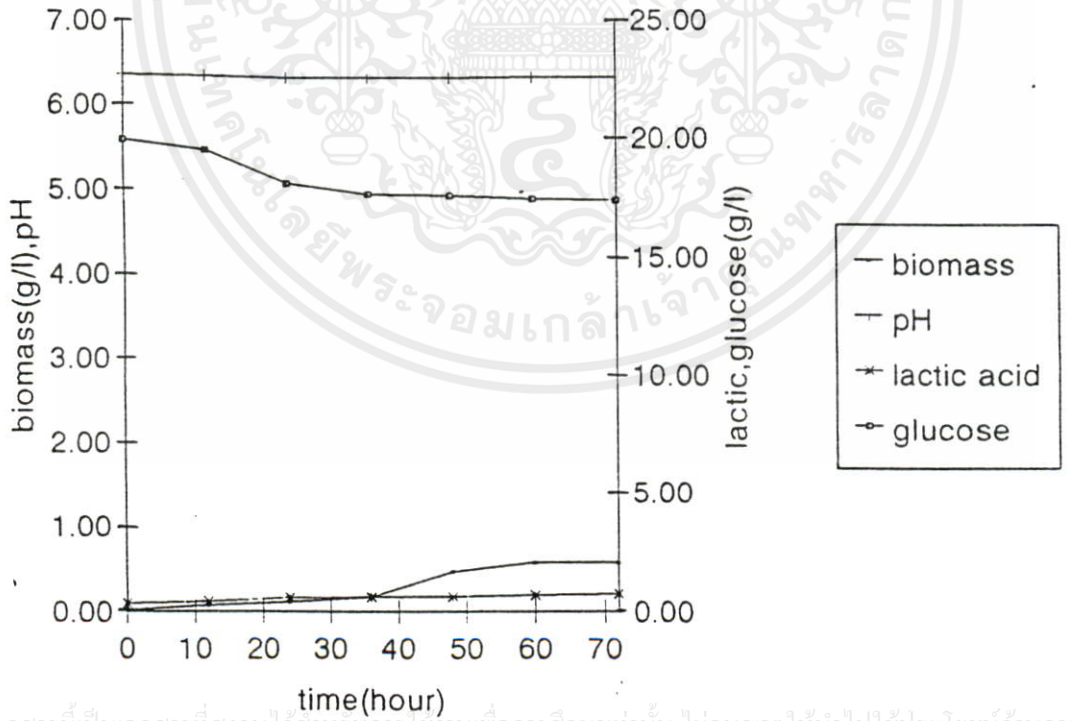


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.12 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่า

ตารางที่4.12 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง (กรัมต่อลิตร)	น้ำหนักแห้ง	พีเอช (กรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.35	0.34	19.93
12	0.07	6.33	0.41	19.72
24	0.17	6.30	0.58	18.06
36	0.38	6.30	0.60	17.59
48	0.46	6.30	0.61	17.55
60	0.57	6.31	0.67	17.43
72	0.57	6.31	0.72	17.39

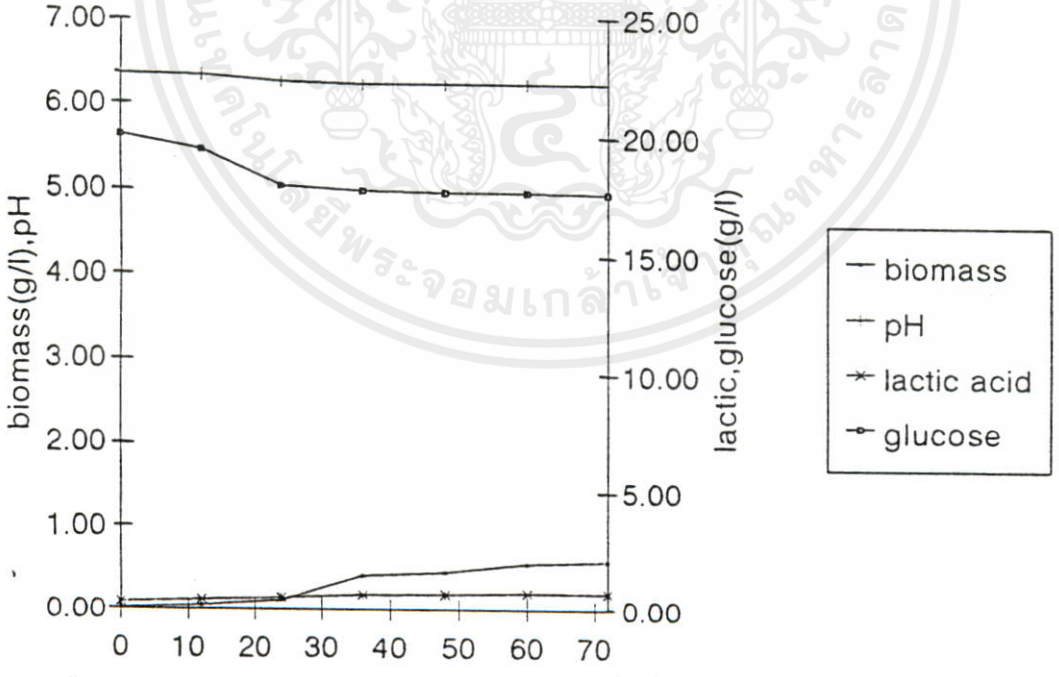


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.13 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า

ตารางที่4.13 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารGYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.35	0.34	20.12
12	0.05	6.33	0.45	19.48
24	0.12	6.25	0.53	17.95
36	0.41	6.22	0.66	17.72
48	0.46	6.30	0.60	17.59
60	0.57	6.31	0.67	17.43
72	0.50	6.31	0.72	17.39



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.14 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่า

ตารางที่ 4.14 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในสภาวะเขย่า

สูตรอาหาร	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
MRS สำเร็จรูป	0.35	0.10	0.45
MRSสูตรดัดแปลง	0.34	0.13	0.45
GS	0.18	0.06	0.25
MEA	0.08	0.05	0.11
GYP	0.09	0.08	0.12
GYP-$CaCO_3$	0.08	0.04	0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

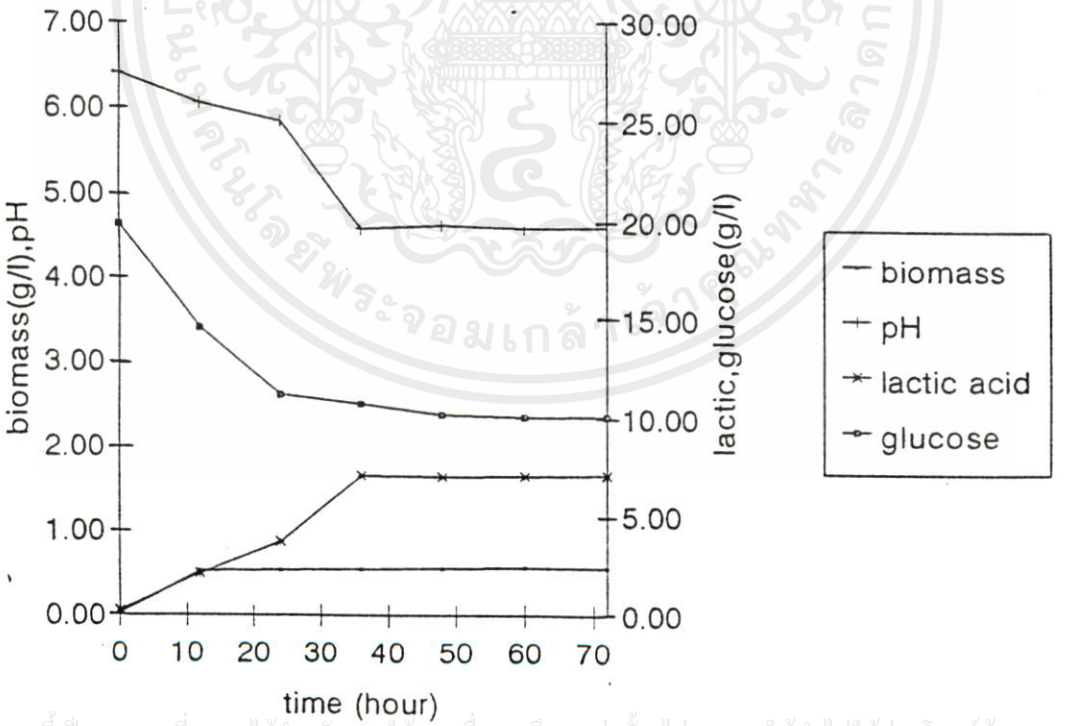
4.2.2 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารต่างๆที่สภาวะนิ่งและเขย่า

จากการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร 6 ชนิดได้แก่ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ในสภาวะนิ่ง ได้ผลดังแสดงในตารางที่4.15-4.20 และภาพที่ 4.15-4.20 พบว่าอาหาร MRS สำเร็จรูป และMRS สูตรดัดแปลงจะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 0.56 และ 0.57 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 ตามลำดับ และให้ค่าที่สูงกว่าอาหารชนิดอื่น อาหารทั้ง 2 ชนิดจะให้ค่าน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 10 ส่วนปริมาณของกรดแลคติกพบว่าในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงจะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมง ที่ 72 คือ 8.10 กรัมต่อลิตร และในอาหาร MRS สำเร็จรูป คือ 7.12 กรัมต่อลิตร ส่วนในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ จะให้ปริมาณกรดแลคติกต่ำมาก คือ 0.55, 0.77, 0.73 และ 0.84 กรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยปริมาณกรดแลคติกที่ค่อนข้างต่ำมีผลให้ค่าของพีเอชเปลี่ยนแปลงน้อย ค่าพีเอชต่ำสุดอยู่ที่ 6.30, 6.35, 6.28 และ 6.14 ตามลำดับ แต่ในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลงจะให้ค่าพีเอชลดลงและเริ่มคงที่ในชั่วโมงที่ 36 และมีค่าต่ำสุดที่ 4.60 และ 4.58 ตามลำดับ ส่วนในด้านของการใช้น้ำตาลกลูโคส พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูป และ MRS สูตรดัดแปลง จะมีปริมาณกลูโคสเหลือน้อยกว่าอาหารชนิดอื่นคือ 10.09 และ 10.23 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่ในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ มีการใช้ปริมาณกลูโคสน้อย ซึ่งในชั่วโมงสุดท้ายจะมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ 18.22, 18.60, 18.30 และ 17.44 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูป มีค่าเท่ากับ 0.27 ต่อชั่วโมง 0.10 และ 0.35 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ และในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงจะมีค่า 0.26 ต่อชั่วโมง 0.08 และ 0.37 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงและ MRS สำเร็จรูป มีค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ใกล้เคียงกันและมีค่าสูงกว่าอาหารชนิดอื่นดังตารางที่ 4.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.15 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.40	0.25	19.88
12	0.52	6.05	2.10	14.59
24	0.53	5.84	3.71	11.20
36	0.54	4.58	7.08	10.73
48	0.55	4.62	7.02	9.19
60	0.56	4.59	7.05	8.07
72	0.56	4.60	7.12	8.09

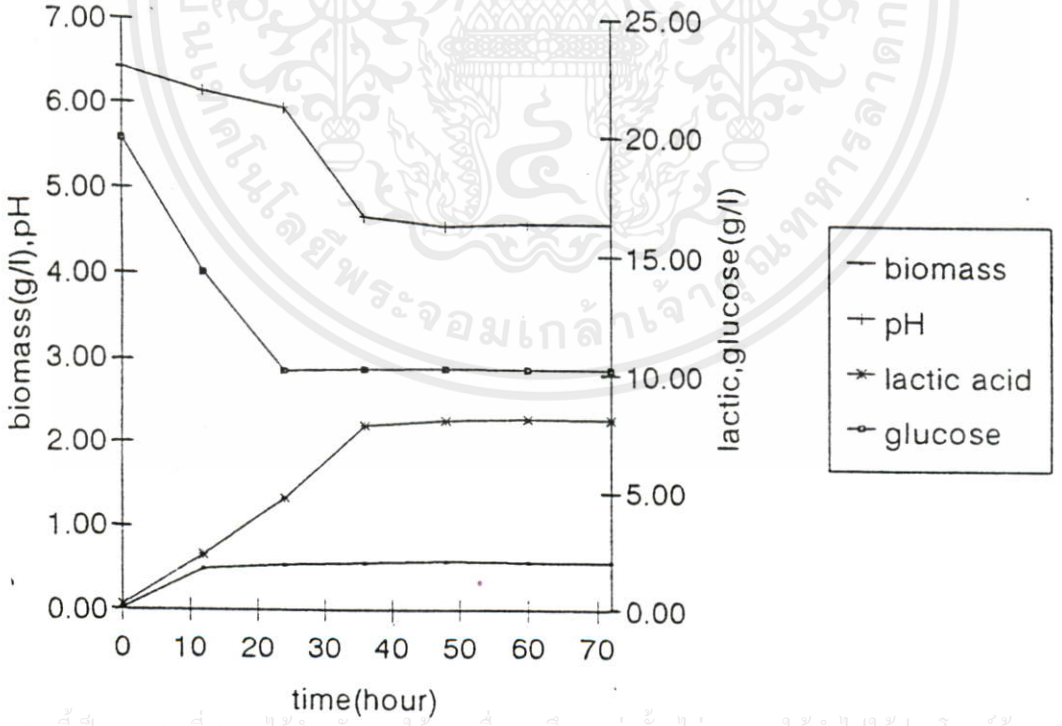


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.15 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.16 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRSสูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.42	0.22	19.94
12	0.48	6.13	2.32	14.32
24	0.53	5.93	4.73	10.28
36	0.55	4.66	7.82	9.23
48	0.57	4.55	8.06	8.26
60	0.56	4.58	8.12	8.24
72	0.56	4.58	8.10	8.13

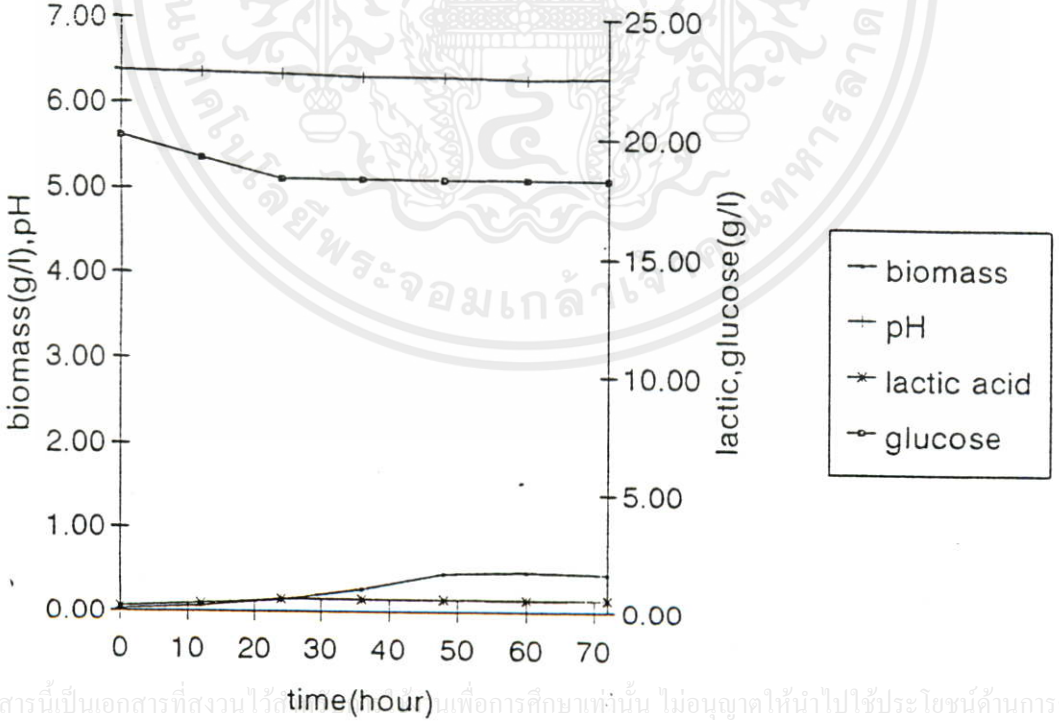


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.16 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.17 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.37	0.23	20.05
12	0.07	6.35	0.38	19.10
24	0.15	6.33	0.56	18.23
36	0.27	6.30	0.56	18.23
36	0.27	6.30	0.55	18.21
48	0.45	6.30	0.56	18.20
60	0.47	6.28	0.54	18.22
72	0.45	6.30	0.55	18.22

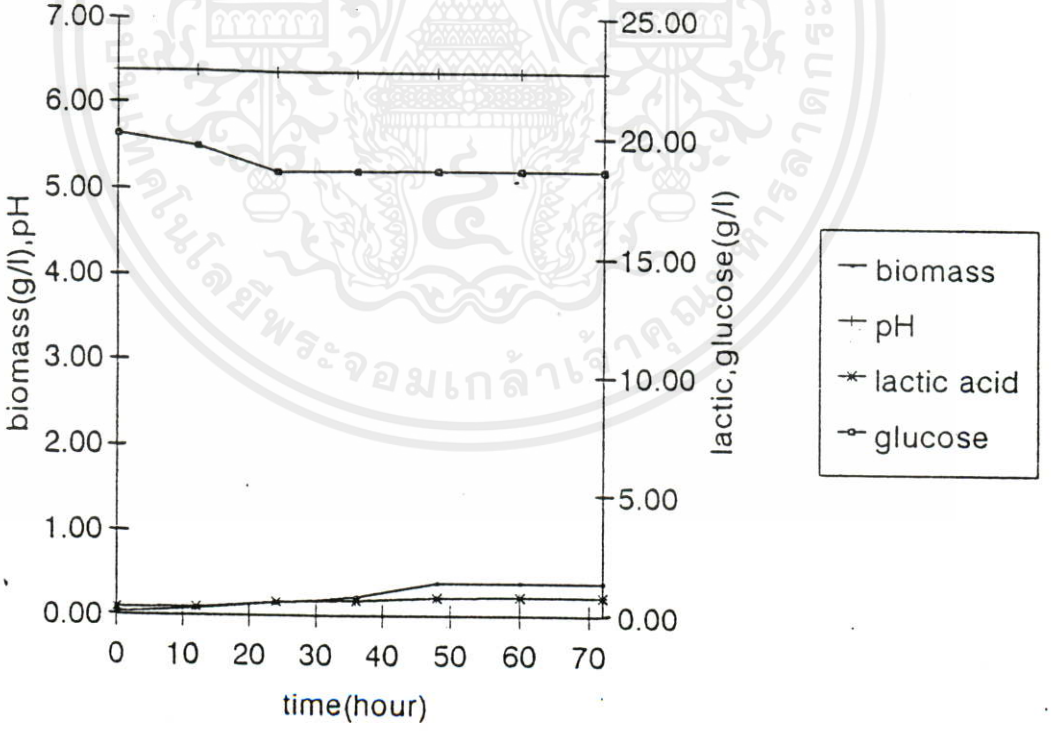


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.17 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.18 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.37	0.33	20.11
12	0.08	6.37	0.35	19.62
24	0.15	6.35	0.57	18.54
36	0.22	6.35	0.61	18.58
48	0.38	6.35	0.75	18.61
60	0.38	6.35	0.77	18.60
72	0.38	6.35	0.77	18.60

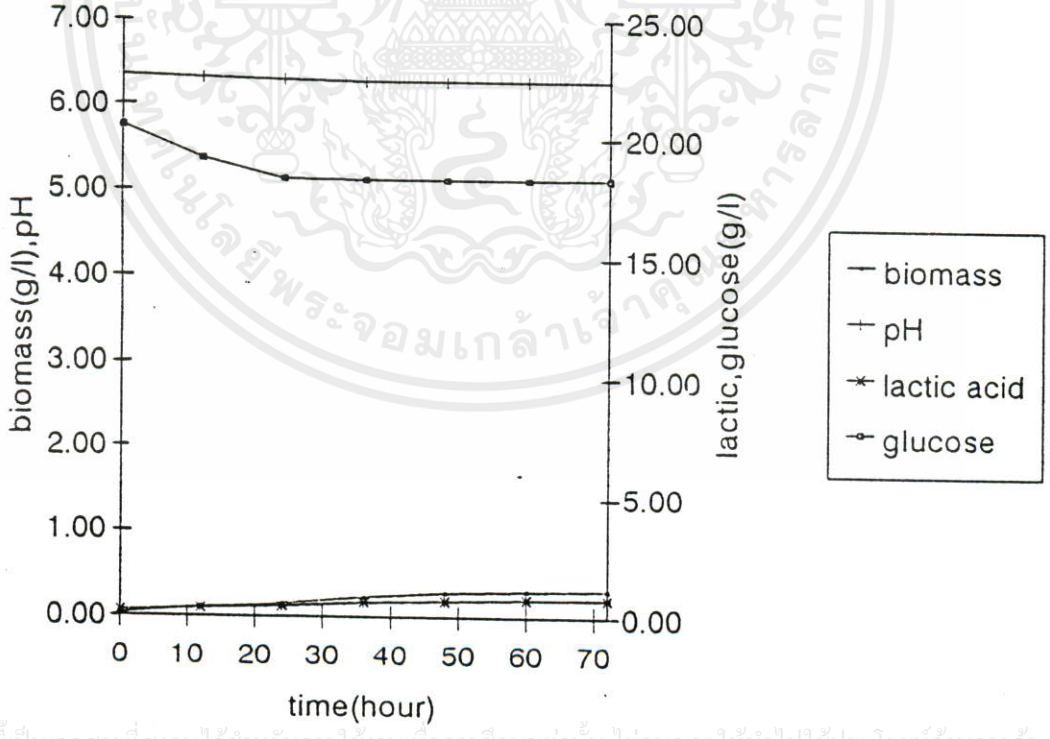


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.18 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.19 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.35	0.23	20.53
12	0.11	6.32	0.34	19.17
24	0.15	6.30	0.42	18.33
36	0.23	6.28	0.59	18.29
48	0.28	6.28	0.65	18.28
60	0.30	6.28	0.72	18.29
72	0.31	6.28	0.73	18.30

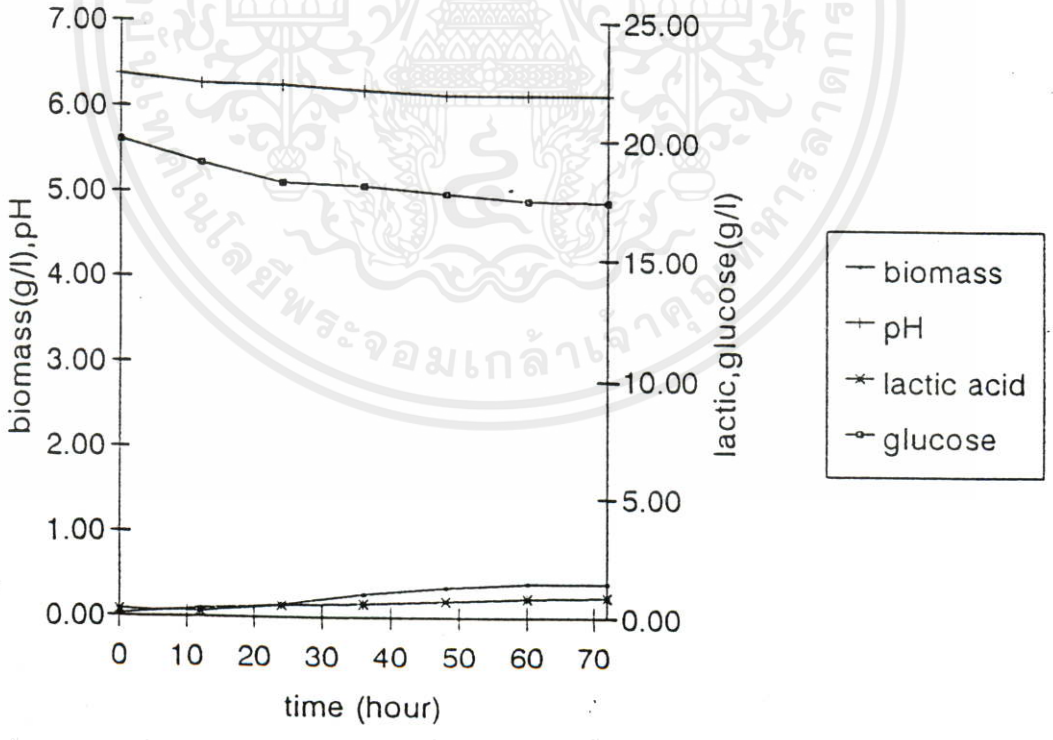


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.19 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะนิ่ง

ตารางที่4.20 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.03	6.37	0.30	20.02
12	0.10	6.27	0.22	19.07
24	0.15	6.25	0.48	18.25
36	0.27	6.19	0.56	18.11
48	0.35	6.14	0.67	17.79
60	0.40	6.14	0.79	17.49
72	0.40	6.14	0.84	17.44



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.20 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะนิ่ง

ตารางที่ 4.21 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่ง

สูตรอาหาร	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
MRS สำเร็จรูป	0.27	0.10	0.35
MRSสูตรดัดแปลง	0.26	0.08	0.37
GS	0.07	0.06	0.18
MEA	0.07	0.07	0.15
GYP	0.07	0.08	0.14
GYP-$CaCO_3$	0.07	0.06	0.10

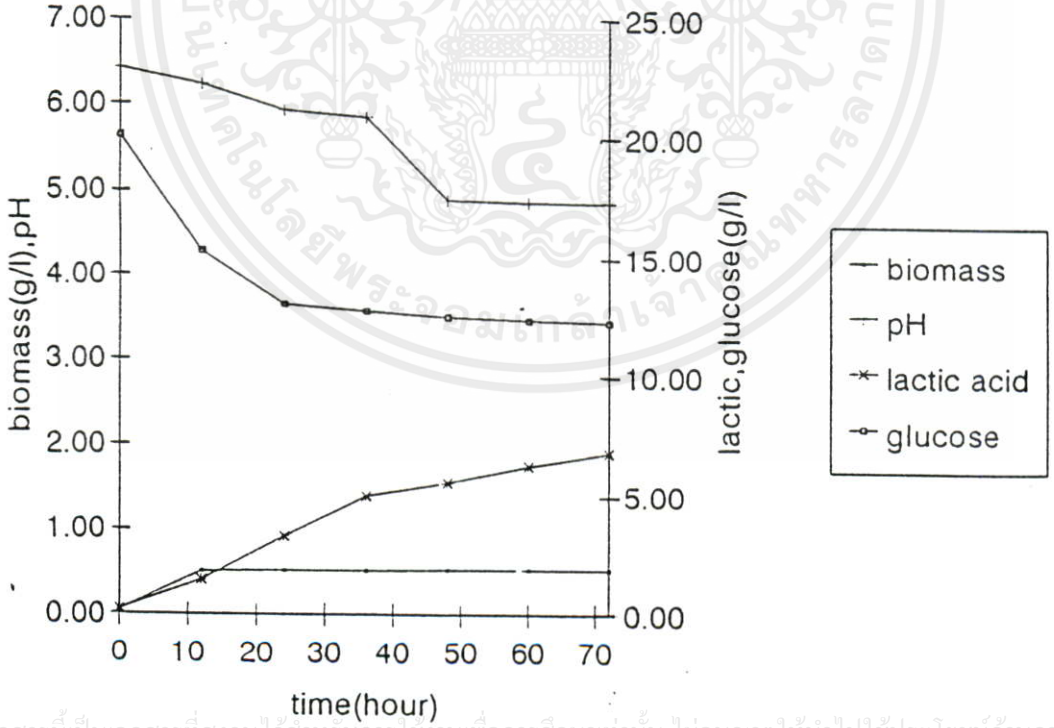
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร 6 ชนิด ได้แก่ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS, MEA, GYP และ GYP-$CaCO_3$ ในสภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาทีได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.22-4.27 และภาพที่ 4.21-4.26) พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง จะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากันคือ 0.52 กรัมต่อลิตร และจะสูงกว่าอาหารชนิดอื่น โดยอาหารทั้ง 2 ชนิด จะให้ค่าน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 10 ส่วนค่าน้ำหนักแห้งในอาหาร GS MEA GYP,และ GYP-$CACO_3$ จะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในชั่วโมงสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 72) สำหรับปริมาณกรดแลคติก พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง จะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 6.38 และ 5.72 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ส่วนในอาหาร GS MEA GYPและ GYP-$CACO_3$ จะให้ปริมาณกรดแลคติกต่ำ คือ 0.41, 0.66, 0.40 และ 0.47 กรัมต่อลิตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดแลคติกในอาหาร 4 ชนิดนี้ปริมาณต่ำ ซึ่งมีผลทำให้ค่าพีเอชไม่ลดลงและมีค่าต่ำสุดอยู่ที่ 6.30, 6.35, 6.30 และ 6.30 ตามลำดับ แต่ในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง จะให้ค่าพีเอชต่ำกว่าคือ 4.85 และ 4.90 สำหรับการใช้น้ำตาลกลูโคสพบว่า อาหารMRSสำเร็จรูปและMRSสูตรดัดแปลงจะใช้กลูโคสมากกว่าอาหารชนิดอื่นโดยจะมีปริมาณกลูโคสเหลือเพียง 12.27 และ 12.14 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่ในอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ปริมาณกลูโคสเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ซึ่งในชั่วโมงสุดท้ายจะมีกลูโคสเหลืออยู่ 18.63, 19.03, 18.58 และ 18.11 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ พบว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูป มีค่าเท่ากับ 0.19 ต่อชั่วโมง 0.09 และ 0.35 กรัมต่อกรัม และในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงจะมีค่า 0.19 ต่อชั่วโมง 0.09 และ 0.35 กรัมต่อกรัม ดังตารางที่ 4.28 จะเห็นได้ว่าในอาหาร MRS สำเร็จรูปและMRS สูตรดัดแปลง มีค่าใกล้เคียงกันและมีค่าสูงกว่าอาหารชนิดอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.22 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.05	6.42	0.20	20.10
12	0.50	6.23	1.41	15.31
24	0.51	5.93	3.27	13.03
36	0.51	5.85	5.01	12.74
48	0.52	4.89	5.57	12.49
60	0.52	4.86	6.28	12.35
72	0.52	4.85	6.38	12.27

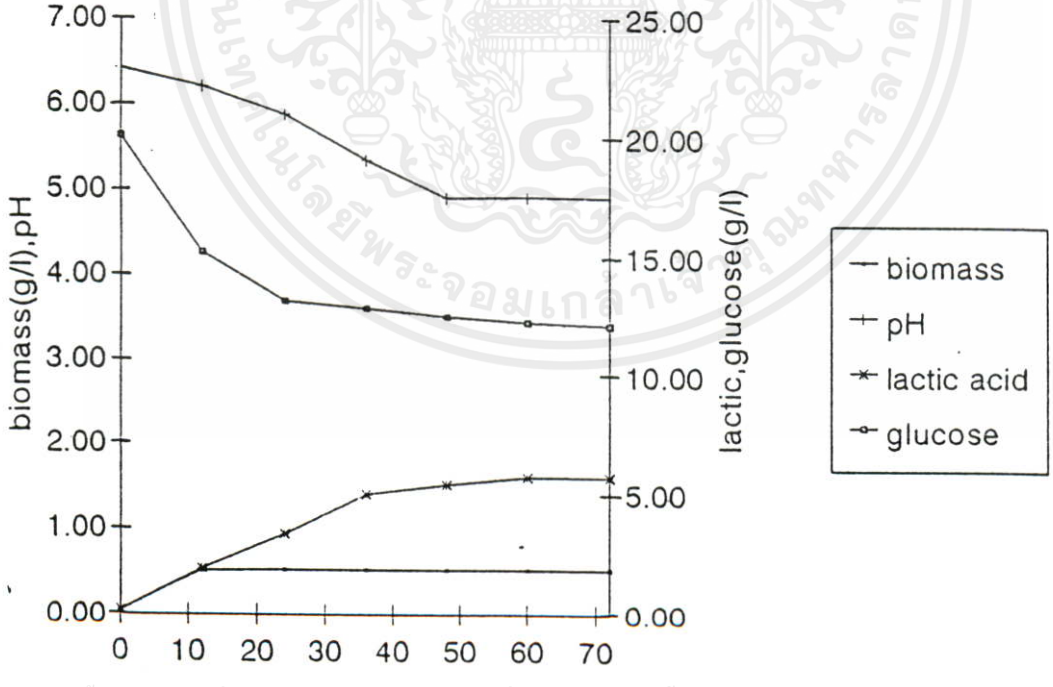


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.21 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สำเร็จรูป สภาวะเขย่า

ตารางที่4.23 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.05	6.41	0.20	20.08
12	0.51	6.20	1.90	15.22
24	0.52	5.87	3.33	13.17
36	0.52	5.34	5.00	12.86
48	0.52	4.90	5.42	12.53
60	0.53	4.91	5.73	12.28
72	0.52	4.90	5.72	12.14

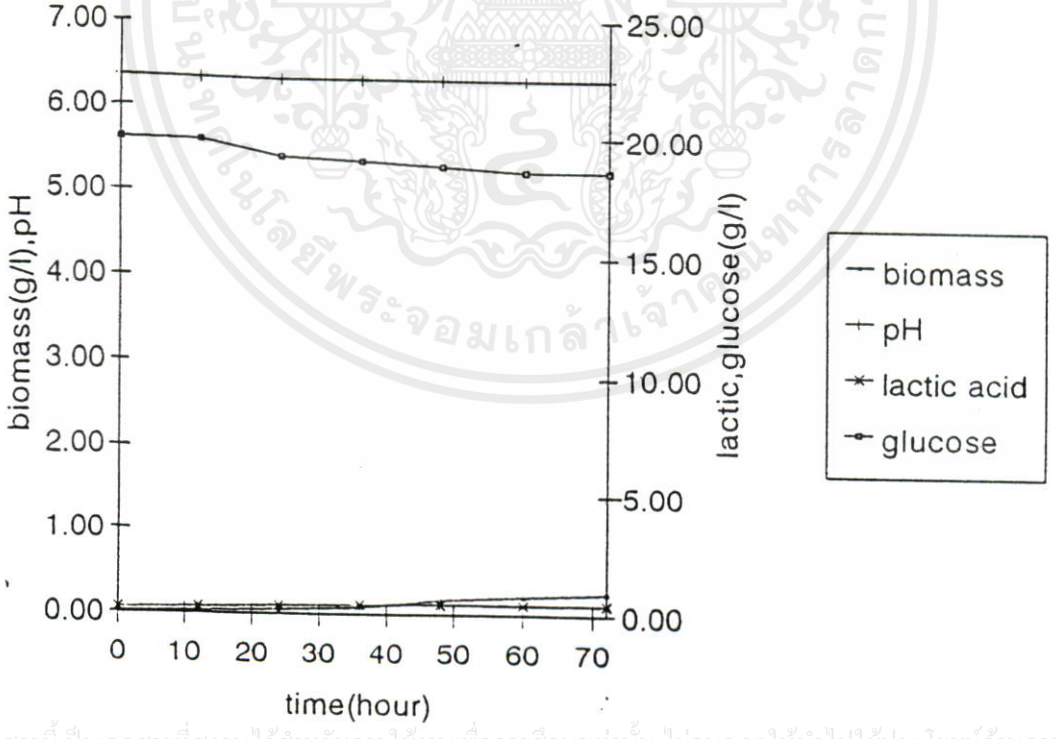


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.22 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง สภาวะเขย่า

ตารางที่4.24 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.35	0.22	20.05
12	0.03	6.32	0.27	19.59
24	0.05	6.30	0.35	19.21
36	0.08	6.30	0.39	19.04
48	0.17	6.30	0.41	18.86
60	0.21	6.30	0.40	18.63
72	0.25	6.30	0.41	18.63

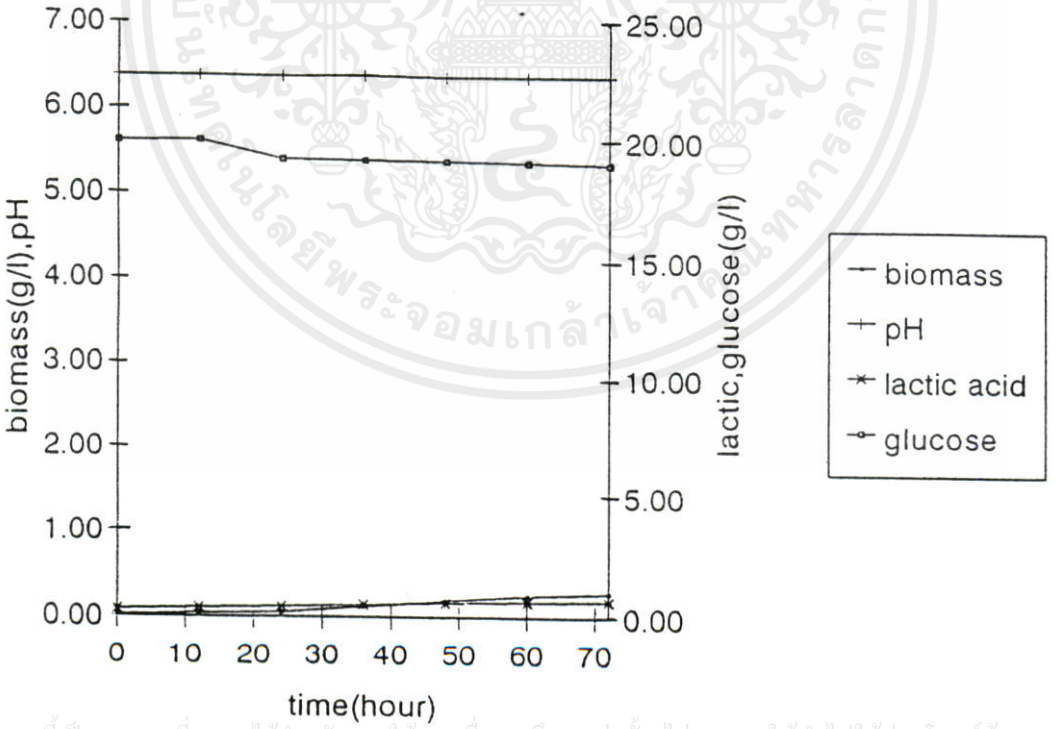


ภาพที่ 4.23 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GS สภาวะเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.25 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.37	0.30	20.02
12	0.04	6.37	0.38	20.05
24	0.05	6.36	0.42	19.25
36	0.12	6.37	0.51	19.21
48	0.19	6.35	0.58	19.17
60	0.25	6.35	0.63	19.11
72	0.28	6.35	0.66	19.03

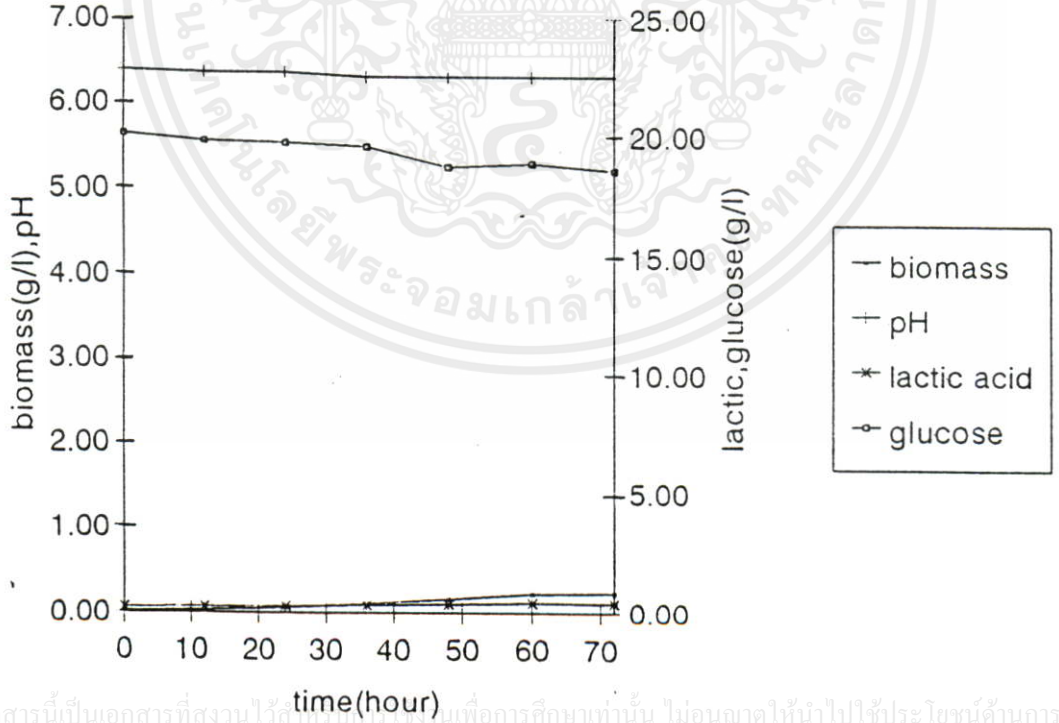


ภาพที่ 4.24 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร MEA สภาวะเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.26 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.38	0.22	20.11
12	0.03	6.35	0.25	19.81
24	0.06	6.35	0.28	19.72
36	0.11	6.30	0.32	19.65
48	0.16	6.30	0.35	18.72
60	0.22	6.30	0.41	18.87
72	0.23	6.30	0.40	18.58

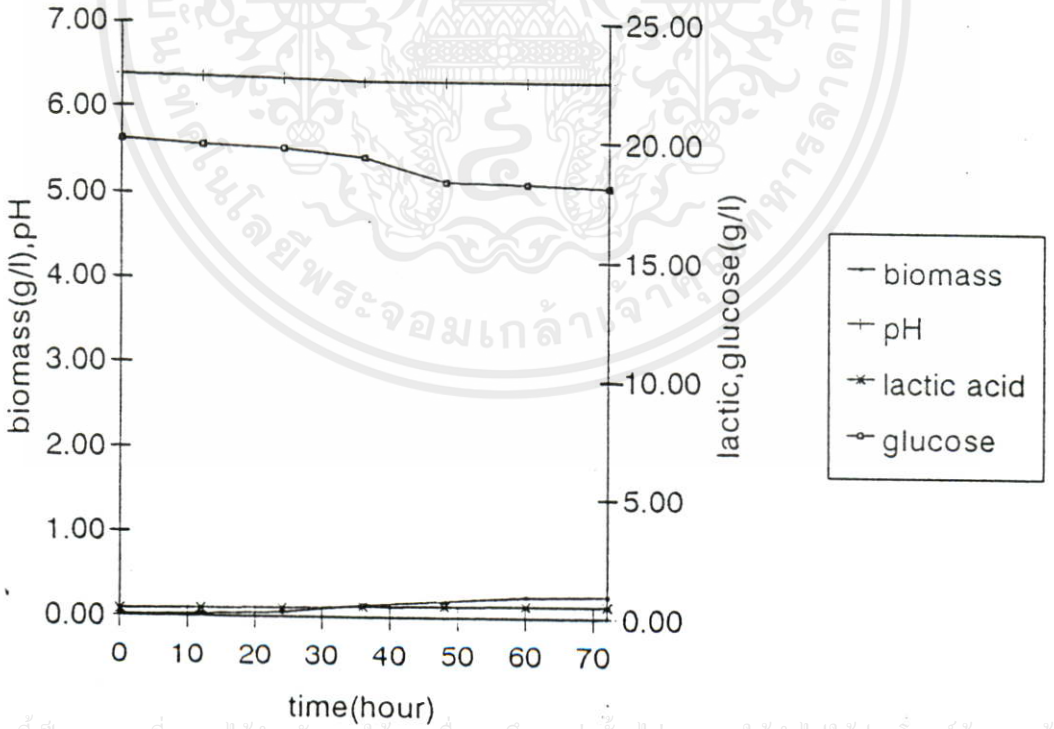


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.25 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP สภาวะเขย่า

ตารางที่4.27 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP-$CaCO_3$ สภาวะเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.37	0.30	20.07
12	0.03	6.35	0.34	19.84
24	0.05	6.33	0.36	19.69
36	0.14	6.30	0.43	19.33
48	0.19	6.30	0.45	18.32
60	0.24	6.30	0.47	18.25
72	0.25	6.30	0.47	18.11



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 4.26 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหาร GYP- $CaCO_3$ สภาวะเขย่า

ตารางที่ 4.28 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในอาหารเหลวสูตรต่างๆ ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะเขย่า

สูตรอาหาร	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
MRS สำเร็จรูป	0.19	0.09	0.35
MRSสูตรดัดแปลง	0.19	0.09	0.35
GS	0.03	0.03	0.15
MEA	0.03	0.03	0.15
GYP	0.04	0.09	0.15
GYP-$CaCO_3$	0.03	0.07	0.15

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองในหัวข้อ 4.2.1 และ4.2.2 เมื่อนำค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)มาวิเคราะห์ผลทางสถิติสรุปผลได้ดังนี้

เมื่อนำค่า μ_{max} ในตารางที่ 4.7, 4.14 , 4.21 และ 4.28 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย μ_{max} ดังตารางที่ 4.29-4.32 พบว่าปัจจัยทั้งสอง คือสภาวะและสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงที่ใช้ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน และเมื่อพิจารณาสภาวะที่ใช้ในการทดลองพบว่าสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยสภาวะนิ่งจะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงกว่าสภาวะแบบเขย่า ส่วนสูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยในกลุ่มสูตรอาหาร MRS สำเร็จรูป และ MRS สูตรดัดแปลงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและในกลุ่มสูตรอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน แต่ในกลุ่มแรกจะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงกว่าในกลุ่มหลัง และเมื่อพิจารณาเชื้อที่ใช้ในการทดลองคือ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งโดย *L. casei* subsp. *rhamnosus* จะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงกว่า *L. delbrueckii*

เมื่อนำค่า $Y_{p/s}$ ในตารางที่ 4.7, 4.14 , 4.21 และ 4.28 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ ดังตารางที่ 4.33-4.36 พบว่าปัจจัยทั้งสอง คือสภาวะและสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงที่ใช้ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน และเมื่อพิจารณาสภาวะที่ใช้ในการทดลองพบว่าสภาวะเขย่าและสภาวะนิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสภาวะนิ่งจะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงกว่าสภาวะแบบเขย่า ส่วนสูตรอาหารที่ใช้ในการทดลองพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยในกลุ่มสูตรอาหาร MRS สำเร็จรูป และ MRS สูตรดัดแปลงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติและในกลุ่มสูตรอาหาร GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน แต่ในกลุ่มแรกจะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงกว่าในกลุ่มหลัง และเมื่อพิจารณาเชื้อที่ใช้ในการทดลองคือ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งโดย *L. casei* subsp. *rhamnosus* จะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงกว่า *L. delbrueckii*

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือสภาวะนิ่งเพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่าสภาวะเขย่า และสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MRS สำเร็จรูปหรือMRS สูตรดัดแปลงเพราะให้ค่าทั้ง μ_{max} และ$Y_{p/s}$ ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และเลือกใช้เชื้อ *L.casei* subsp. *rhamnosus* เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่า *L. delbrueckii* แต่ในการทดลองขั้นต่อไปเลือกใช้อาหาร MRS สูตรดัดแปลง เพราะ MRS สูตรดัดแปลงมีราคาถูกกว่า เนื่องจากเป็นสูตรอาหารที่เตรียมขึ้นเองแต่อาหาร MRS สำเร็จรูปเป็นสูตรอาหารที่ผสมแล้วจึงมีราคาแพงกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ **4.29** การวิเคราะห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆที่สภาวะนิ่งและเขย่า

SOV	DF	SS	MS	F
block	1	0.079	0.079	35.994**
a	1	0.024	0.024	10.917**
b	5	0.268	0.057	25.960**
a x b	5	0.005	0.001	0.493
error	11	0.024	0.002	
total	23	0.419		

block เชื้อที่ใช้ในการทดลอง

a สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

b สูตรอาหารแต่ละชนิด

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.30 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่ง และสภาวะเขย่า

สภาวะ	ค่าเฉลี่ย
แบบนิ่ง	0.199 [a]
แบบเขย่า	0.135 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่4.31 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	ค่าเฉลี่ย
MRS สำเร็จรูป	0.322 [a]
MRS สูตรดัดแปลง	0.317 [a]
GS	0.127 [b]
MEA	0.080 [b]
GYP	0.080 [b]
GYP-$CaCO_3$	0.775 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.32 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii*

เชื้อที่ใช้ในการทดลอง	ค่าเฉลี่ย
L.casei subsp. *rhamnosus*	0.225 [a]
L. delbrueckii	0.110 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.33 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆที่สภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า

SOV	DF	SS	MS	F
block	1	0.062	0.062	10.246**
a	1	0.031	0.031	5.091*
b	5	0.412	0.082	13.621**
a x b	5	0.004	0.001	0.145
error	11	0.067	0.006	
total	23	0.576		

block เชื้อที่ใช้ในการทดลอง

a สภาวะที่ใช้ในการทดลอง

b สูตรอาหารแต่ละชนิด

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.34 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ*Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในสภาวะนิ่งและเขย่า

สภาวะ	ค่าเฉลี่ย
แบบนิ่ง	0.303 [a]
แบบเขย่า	0.231 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่4.35 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ในอาหารสูตรต่างๆ

สูตรอาหาร	ค่า เฉลี่ย
MRS สำเร็จรูป	0.452 [a]
MRS สูตรดัดแปลง	0.447 [a]
GS	0.220 [b]
MEA	0.175 [b]
GYP	0.167 [b]
GYP-$CaCO_3$	0.142 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 1 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved
ผลงานนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.36 ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* และ *Lactobacillus delbrueckii*

เชื้อที่ใช้ในการทดลอง	ค่าเฉลี่ย
L.casei subsp. *rhamnosus*	0.310 [a]
L. delbrueckii	0.220 [b]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 5 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการศึกษาหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของกลูโคสต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*

เมื่อนำเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงที่สภาวะนิ่ง ที่มีการปรับระดับความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารให้มีความเข้มข้น 1, 2, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากลูโคสเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์จะให้น้ำหนักแห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 และสูงกว่าที่ระดับอื่นคือ 3.45 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ระดับ 7, 10, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 3.21, 3.20, 2.82, และ 2.11 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.37-4.41 และภาพที่ 4.27-4.31 สำหรับการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* พบว่าที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 และสูงกว่าที่ระดับอื่นคือ 31.67 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ระดับ 10, 7, 2 และ 1 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 27.59, 27.14, 18.82 และ 11.07 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ซึ่งมีผลต่อค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าพีเอชที่ต่ำสุดคือ 3.60 รองลงมาคือ 3.66, 3.69, 3.90 และ 4.60 ในชั่วโมงที่ 72 ตามลำดับ ส่วนปริมาณกลูโคสที่เหลือในชั่วโมงที่ 72 ที่ระดับ 1, 2, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เท่ากับ 2.72, 3.23, 28.72, 43.18 และ 63.30 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ดังตารางที่ 4.42 พบว่าที่ระดับ 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 1.41 ต่อชั่วโมง 0.30 และ 0.81 กรัมต่อกรัมตามลำดับซึ่งสูงกว่าที่ระดับอื่น

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)มาวิเคราะห์ผลทางสถิติสรุปได้ดังนี้

เมื่อนำค่า μ_{max} ในตารางที่ 4.42 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย μ_{max} ดังตารางที่ 4.43-4.44 พบว่าระดับความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงสุด และไม่พบความแตกต่างทางสถิติในระดับความเข้มข้นกลูโคส 2 กับ 7 เปอร์เซ็นต์ 7 กับ 1 เปอร์เซ็นต์และ 1 กับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้ง 3 กลุ่ม จะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} ลดหลั่นกันไป

เมื่อนำค่า $Y_{p/s}$ ในตารางที่ 4.42 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ ดังตารางที่ 4.45-4.46 พบว่าระดับความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงสุดและไม่พบความแตกต่างทางสถิติในระดับความเข้มข้นกลูโคส 2 กับ 7 เปอร์เซ็นต์ 7 กับ 1 เปอร์เซ็นต์ และ 1 กับ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยทั้ง 3 กลุ่ม จะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ ลดหลั่นกันไป

ดังนั้นระดับความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* คือ 5 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีความแตกต่างกัน

ไม่ว่า... นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่า... ที่มีการนำไปใช้

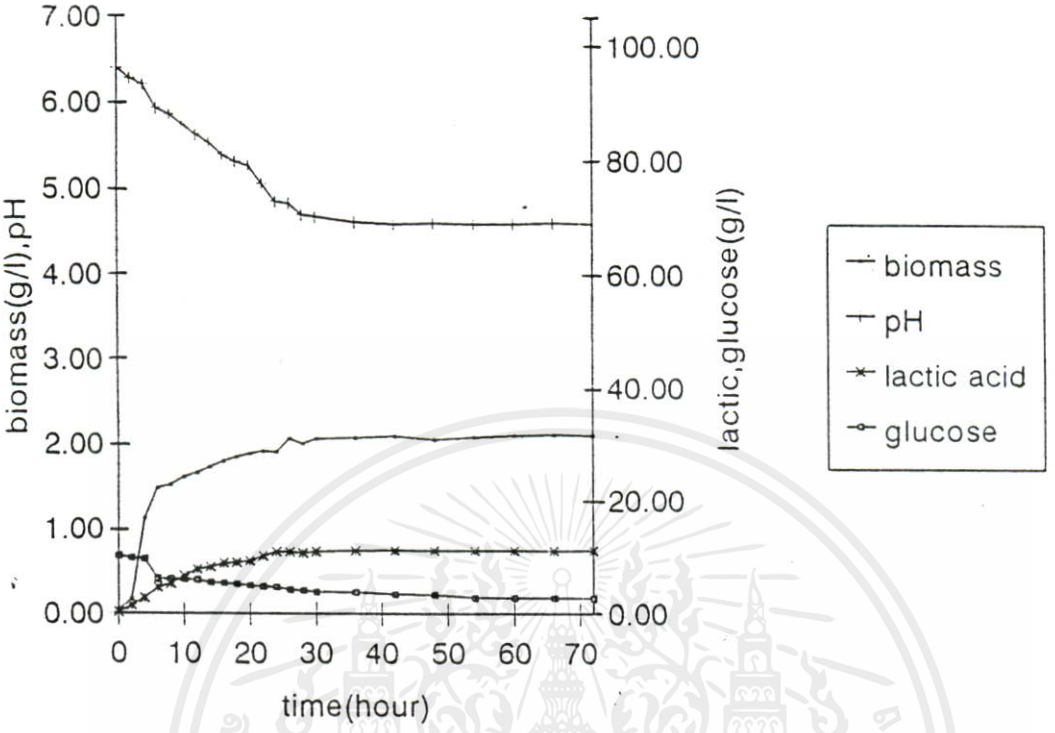
ทางสถิติจากกลุ่มอื่นและให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่าที่ระดับอื่น ดังนั้นจึงเลือกระดับความเข้มข้นกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.37 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.05	6.40	0.23	10.15
2	0.17	6.28	1.44	9.77
4	1.12	6.21	2.72	9.59
6	1.48	5.93	4.59	6.12
8	1.52	5.86	5.22	6.08
10	1.61	5.74	6.63	6.02
12	1.66	5.63	7.78	5.89
14	1.73	5.54	8.15	5.44
16	1.80	5.40	8.83	5.37
18	1.85	5.32	8.97	5.19
20	1.89	5.27	9.24	4.95
22	1.92	5.06	10.12	4.78
24	1.91	4.85	10.85	4.66
26	2.07	4.83	10.87	4.23
28	2.01	4.70	10.64	4.08
30	2.07	4.68	10.92	3.82
36	2.08	4.62	11.05	3.77
42	2.10	4.60	11.10	3.41
48	2.06	4.61	11.06	3.32
54	2.09	4.60	11.07	2.81
60	2.11	4.60	11.08	2.77
66	2.12	4.61	11.04	2.76
72	2.11	4.60	11.07	2.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



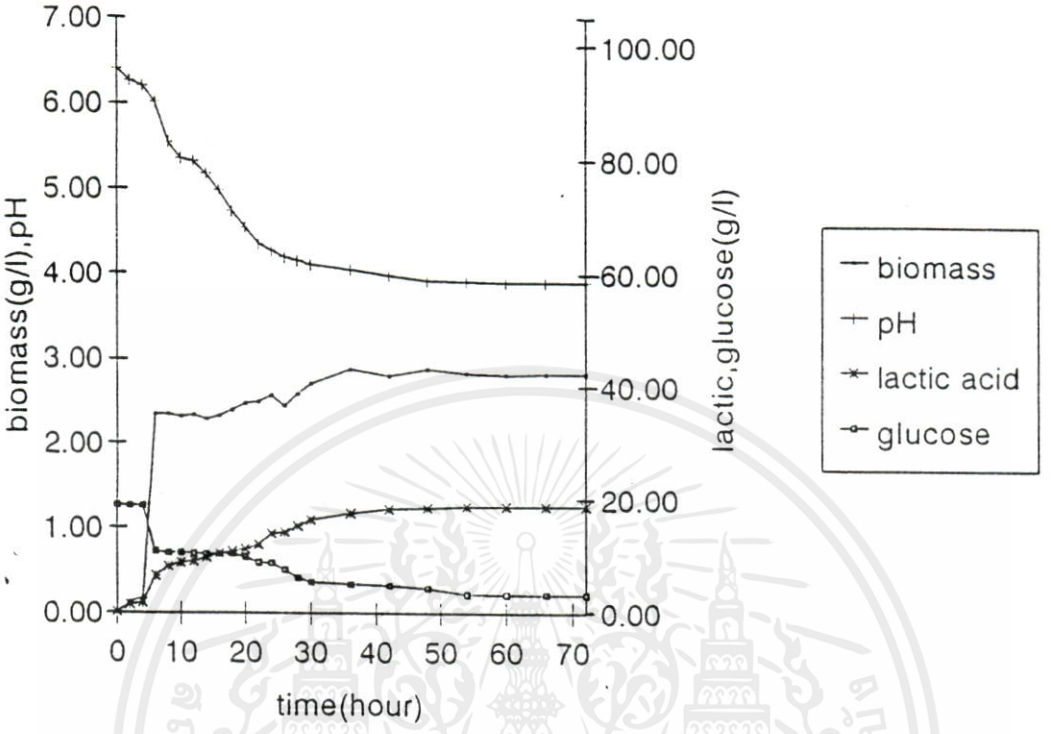
ภาพที่4.27 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.38 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.02	6.40	0.20	19.06
2	0.13	6.26	1.46	18.95
4	0.18	6.20	1.75	18.93
6	2.35	6.01	6.52	10.83
8	2.35	5.54	8.17	10.57
10	2.32	5.35	8.81	10.63
12	2.34	5.32	9.03	10.42
14	2.29	5.17	9.66	10.37
16	2.33	4.98	10.51	10.40
18	2.40	4.74	10.82	10.36
20	2.48	4.55	11.23	6.78
22	2.50	4.36	12.02	8.82
24	2.57	4.28	13.97	8.76
26	2.45	4.20	14.24	7.59
28	2.59	4.16	15.38	6.21
30	2.71	4.11	16.44	5.48
36	2.88	4.05	17.61	5.11
42	2.80	3.98	18.39	4.87
48	2.88	3.92	18.55	4.39
54	2.83	3.91	18.83	3.34
60	2.81	3.90	18.81	3.28
66	2.82	3.90	18.80	3.25
72	2.82	3.90	18.82	3.23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



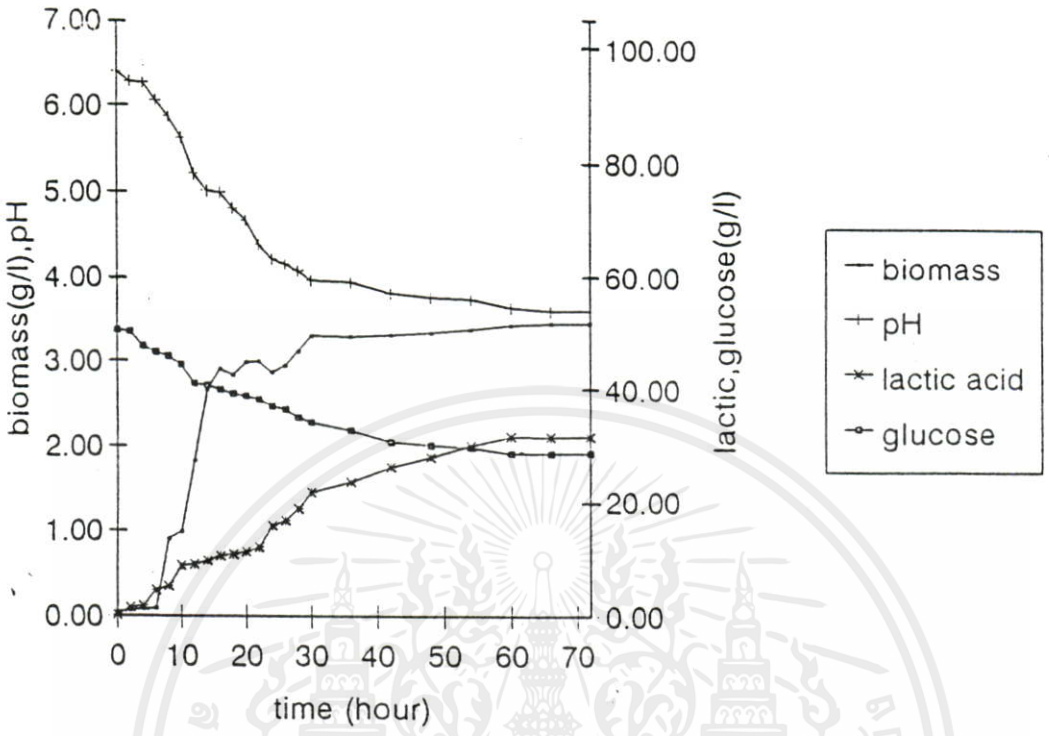
ภาพที่4.28 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.39 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดักฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.05	6.40	0.20	50.52
2	0.07	6.28	1.46	50.23
4	0.08	6.27	1.75	47.62
6	0.09	6.06	4.52	46.58
8	0.90	5.87	5.17	45.87
10	0.99	5.62	8.81	44.42
12	1.83	5.21	9.03	41.10
14	2.67	5.01	9.66	40.85
16	2.91	4.99	10.51	40.04
18	2.84	4.81	10.82	39.33
20	2.99	4.67	11.23	38.91
22	3.00	4.39	12.02	38.33
24	2.87	4.22	15.83	37.17
26	2.95	4.16	16.72	36.59
28	3.12	4.08	18.90	35.14
30	3.30	3.96	21.81	34.27
36	3.29	3.94	23.66	32.82
42	3.31	3.81	24.45	26.33
48	3.34	3.76	26.33	28.05
54	3.38	3.74	27.74	30.14
60	3.43	3.64	28.05	31.72
66	3.45	3.60	28.22	31.61
72	3.45	3.60	28.17	31.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



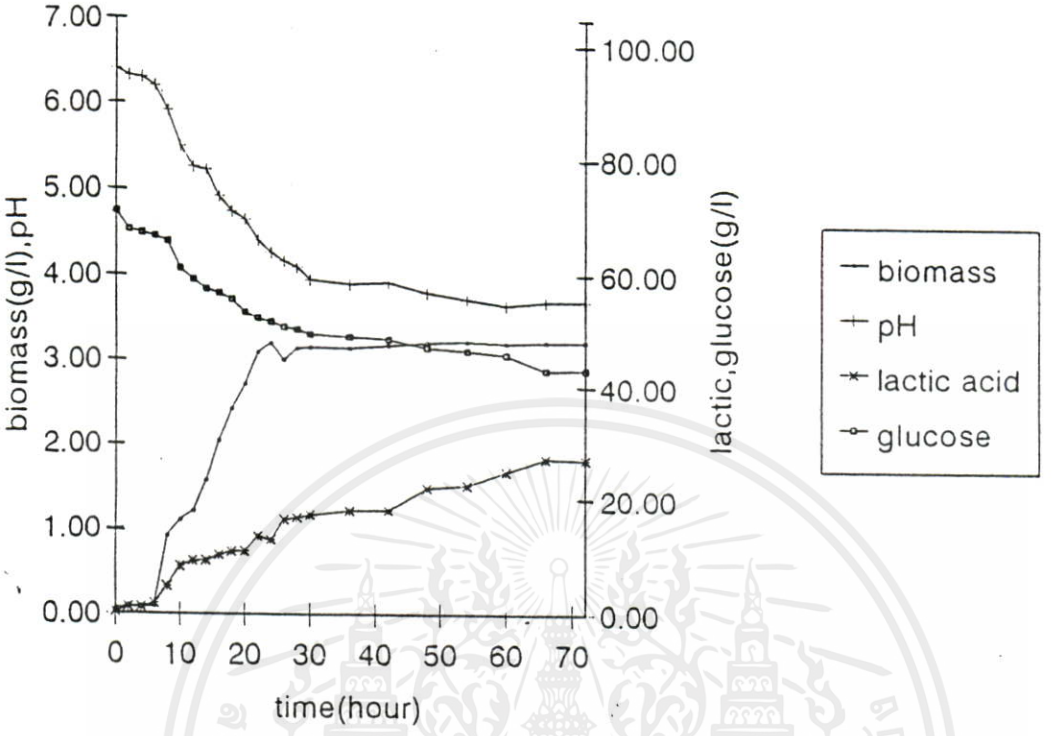
ภาพที่4.29 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.40 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 7 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.06	6.40	0.25	71.12
2	0.09	6.32	1.20	67.93
4	0.07	6.30	1.22	67.35
6	0.09	6.20	1.75	66.77
8	0.91	5.91	4.82	65.90
10	1.10	5.49	8.32	61.16
12	1.21	5.25	9.24	59.22
14	1.57	5.22	9.33	57.54
16	2.04	4.91	10.24	56.82
18	2.42	4.74	10.90	55.73
20	2.71	4.65	10.93	53.43
22	3.09	4.41	13.60	52.39
24	3.20	4.27	13.00	51.77
26	3.00	4.17	16.61	50.86
28	3.14	4.10	16.94	50.42
30	3.15	3.95	17.42	49.56
36	3.14	3.90	18.20	49.10
42	3.17	3.92	18.26	48.74
48	3.21	3.80	22.27	47.20
54	3.22	3.72	22.70	46.63
60	3.20	3.65	25.11	45.92
66	3.21	3.69	27.38	43.15
72	3.21	3.69	27.14	43.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



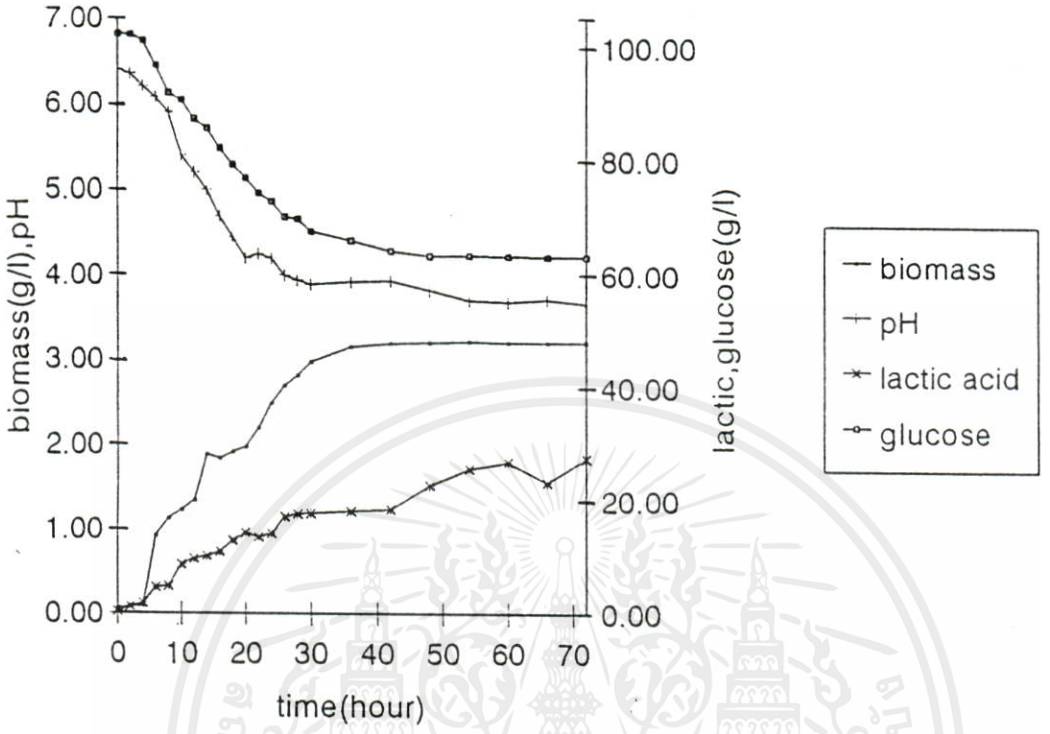
ภาพที่4.30 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 7 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.41 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับฟลาสก์ในสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 10 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.06	6.40	0.25	102.17
2	0.08	6.35	1.21	102.10
4	0.09	6.20	1.77	101.01
6	0.92	6.07	4.60	96.66
8	1.13	5.89	4.82	91.82
10	1.23	5.39	8.70	90.56
12	1.34	5.19	9.70	87.24
14	1.89	4.99	10.15	85.63
16	1.84	4.69	10.92	82.15
18	1.92	4.45	12.97	79.25
20	1.98	4.20	14.26	76.92
22	2.20	4.25	13.60	74.31
24	2.49	4.20	14.17	72.89
26	2.69	4.00	17.20	70.24
28	2.81	3.94	17.70	69.91
30	2.97	3.89	17.80	67.73
36	3.15	3.92	18.20	66.15
42	3.19	3.93	18.53	64.32
48	3.20	3.82	22.84	63.46
54	3.21	3.70	25.78	63.52
60	3.20	3.68	26.92	63.42
66	3.20	3.71	23.33	63.31
72	3.20	3.66	27.59	63.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.31 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 10 เปอร์เซ็นต์ สภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.42 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง

ระดับกลูโคส (%)	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
1	0.54	0.10	0.53
2	0.60	0.24	0.58
5	1.14	0.30	0.81
7	0.60	0.15	0.62
10	0.44	0.06	0.48

ตารางที่4.43 การวิเคราห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง

SOV	DF	SS	MS	F
glucose	4	0.883	0.221	127.82**
error	10	0.017	0.002	
total	14	0.900		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.44 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคสระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง

ระดับกลูโคส (%)	ค่าเฉลี่ย
5	1.140 [a]
2	0.680 [b]
7	0.600 [bc]
1	0.543 [cd]
10	0.440 [d]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่4.45 การวิเคราห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารMRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง

SOV	DF	SS	MS	F
glucose	4	0.190	0.047	54.665**
error	10	0.009	0.001	
total	14	0.198		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.46 ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)ที่ระดับฟลาสก์ของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส ระดับต่างๆ ที่สภาวะนิ่ง

ระดับกลูโคส (%)	ค่าเฉลี่ย
5	0.810 [a]
2	0.620 [b]
7	0.580 [bc]
1	0.536 [cd]
10	0.480 [d]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 1 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในระดับถังหมักแบบแบช

4.3.1 ผลการศึกษาหาปริมาณอากาศ (O_2) ที่เหมาะสมในถังหมัก

จากผลการทดลองที่ระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.47-4.50 และภาพที่ 4.32-4.35 พบว่าปริมาณอากาศ 0 เปอร์เซ็นต์จะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 120 คือ 3.77 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือระดับ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ คือ 3.25, 3.09 และ 2.83 กรัมต่อลิตรตามลำดับ และที่ระดับ 0, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักแห้งเริ่มจะคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6, 12, 12 และ12 ตามลำดับ สำหรับการผลิตกรดแลคติกพบว่าที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์จะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงที่ 120 คือ 37.22 กรัมต่อลิตร และให้ปริมาณสูงสุดมากกว่าระดับอื่น รองลงมาคือที่ระดับ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ คือ 34.95, 31.62 และ 31.45 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ที่ระดับ 0 ,5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าพีเอชลดลงต่ำสุดที่ชั่วโมงสุดท้าย (ชั่วโมงที่ 120) มีค่าเท่ากับ 3.11, 3.30, 3.54, 3.53 ตามลำดับ ส่วนปริมาณกลูโคสที่เหลือพบว่าที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณกลูโคสต่ำสุดคือ 6.12 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือที่ระดับ 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 8.97, 10.07 และ 13.65 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่า μ_{max} , $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ดังตารางที่ 4.51 พบว่าที่ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์จะให้ค่าสูงสุดคือ 0.55 ต่อชั่วโมง 0.19 และ 0.69 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่ระดับอื่น

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ สรุปได้ดังนี้

เมื่อนำค่า μ_{max} ในตารางที่ 4.51 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย μ_{max} ดังตารางที่ 4.52-4.53 พบว่าระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงสุด รองลงมาคือ 5, 10, และ 20 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำค่า $Y_{p/s}$ ในตารางที่ 4.51 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ ดังตารางที่ 4.54-4.55 พบว่าระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยที่ระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงสุด รองลงมาคือ 5, 10, และ 20 เปอร์เซ็นต์

ดังนั้นระดับปริมาณอากาศ (O_2) ในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรด-แลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* คือ 0 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกลุ่มอื่นและให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่าที่ระดับอื่น ดังนั้นจึงเลือกระดับปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.47 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ37องศาเซลเซียสและไม่มีการควบคุมพีเอช

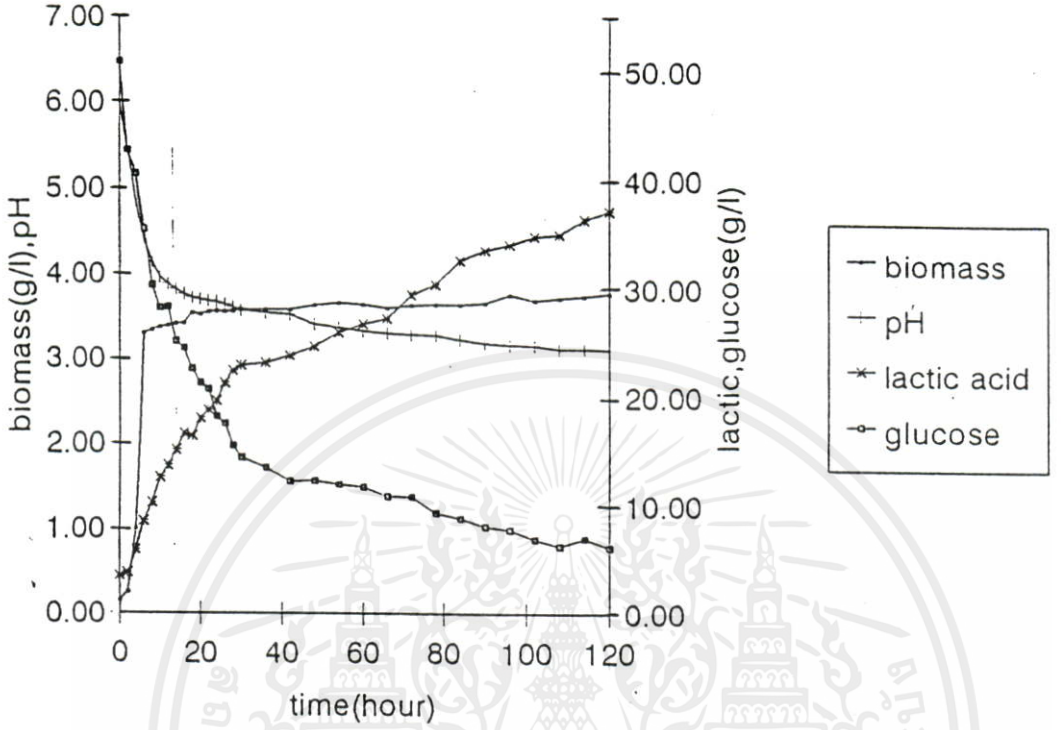
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.15	5.72	3.45	50.83
2	0.25	5.46	3.75	42.73
4	1.00	4.85	5.85	40.60
6	3.30	4.41	8.55	35.57
8	3.34	4.14	10.27	30.36
10	3.37	3.96	12.63	28.26
12	3.39	3.88	13.73	28.38
14	3.41	3.82	15.15	25.18
16	3.42	3.76	16.65	24.52
18	3.54	3.72	16.42	22.62
20	3.52	3.70	18.07	21.32
22	3.55	3.68	18.82	20.74
24	3.56	3.67	19.66	18.19
26	3.55	3.64	21.32	17.58
28	3.56	3.61	22.45	15.53
30	3.58	3.57	22.93	14.45
36	3.58	3.54	23.18	13.51
42	3.58	3.52	23.85	12.26
48	3.63	3.41	24.72	12.32
54	3.66	3.37	26.03	11.96
60	3.64	3.33	26.81	11.73
66	3.60	3.30	27.30	10.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.47 (ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	3.63	3.29	29.54	10.83
78	3.64	3.28	30.48	9.33
84	3.64	3.23	32.72	8.84
90	3.66	3.19	33.69	8.07
96	3.76	3.17	34.21	7.75
102	3.69	3.16	34.95	6.87
108	3.72	3.12	35.14	6.23
114	3.74	3.12	36.48	6.94
120	3.77	3.11	37.22	6.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.32 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.48 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 5 เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียสและไม่มีการควบคุมพีเอช

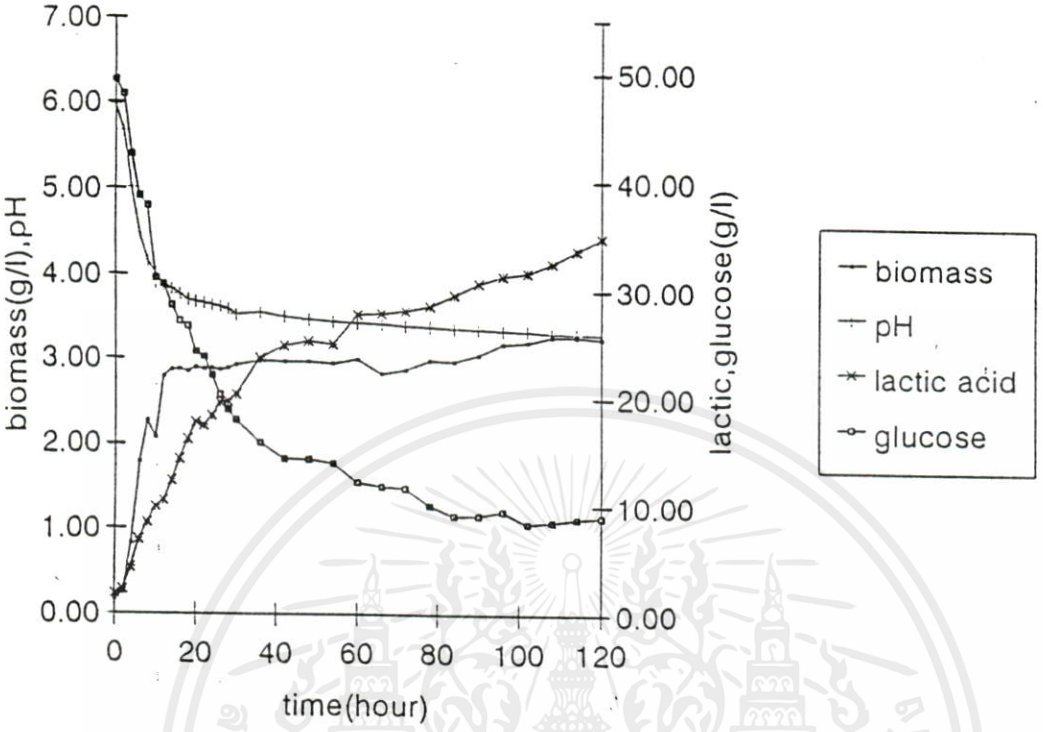
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.17	5.90	1.84	49.28
2	0.25	5.67	2.25	47.95
4	0.83	5.01	4.26	42.43
6	1.79	4.48	6.82	38.63
8	2.27	4.16	8.40	37.75
10	2.07	4.01	9.87	31.08
12	2.79	3.87	10.45	30.52
14	2.87	3.83	12.31	28.53
16	2.88	3.77	14.30	27.07
18	2.85	3.70	16.12	26.61
20	2.90	3.68	17.70	24.21
22	2.88	3.66	17.40	23.75
24	2.89	3.64	18.30	22.01
26	2.87	3.62	19.50	20.22
28	2.89	3.59	19.65	18.83
30	2.93	3.53	20.25	17.92
36	2.98	3.55	23.69	15.80
42	2.97	3.50	24.83	14.33
48	2.97	3.47	25.24	14.31
54	2.95	3.45	24.97	13.93
60	3.00	3.43	27.74	12.18
66	2.83	3.42	27.85	11.79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.48(ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	2.88	3.40	28.12	11.64
78	2.99	3.39	28.57	10.05
84	2.98	3.37	29.61	9.09
90	3.06	3.36	30.74	9.11
96	3.19	3.35	31.42	9.51
102	3.21	3.34	31.73	8.36
108	3.28	3.32	32.64	8.54
114	3.28	3.31	33.82	8.83
120	3.25	3.30	34.95	8.97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.33 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.49 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 10 เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

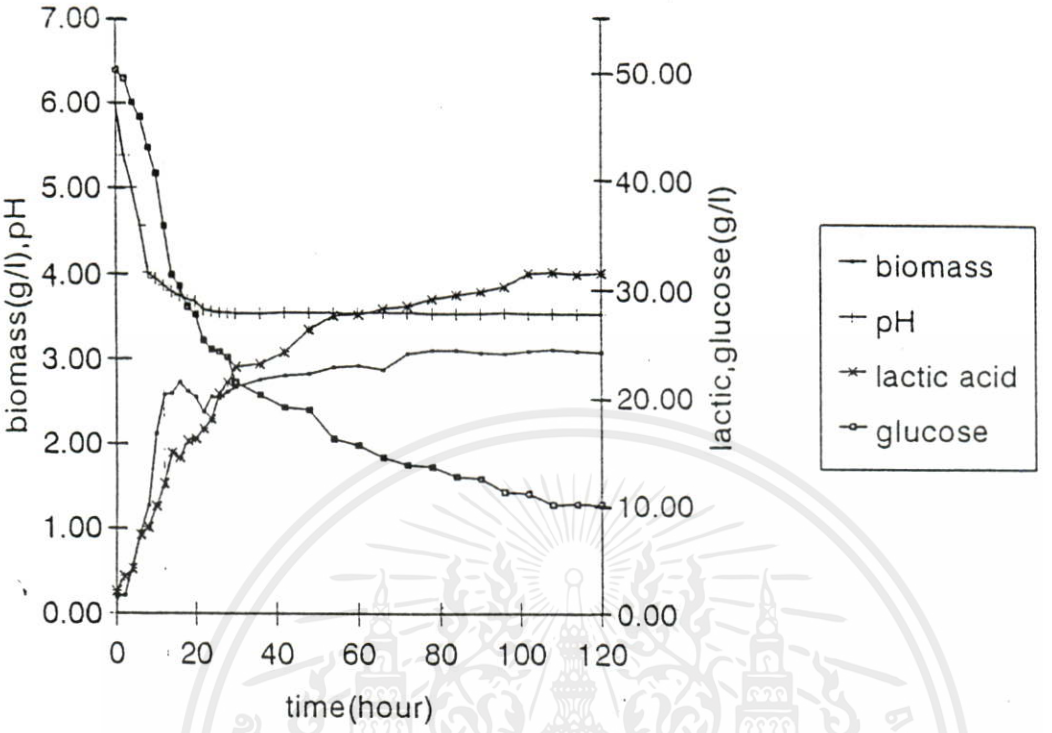
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.18	5.74	2.02	50.16
2	0.21	5.37	3.37	49.37
4	0.57	5.00	4.05	47.13
6	0.95	4.56	7.20	45.79
8	1.27	4.02	7.87	42.95
10	2.12	3.95	9.83	40.60
12	2.58	3.87	11.93	35.82
14	2.60	3.80	14.85	31.38
16	2.73	3.75	14.40	30.36
18	2.62	3.71	15.98	28.43
20	2.55	3.68	16.20	27.72
22	2.37	3.59	17.10	25.34
24	2.56	3.57	18.00	24.50
26	2.54	3.55	20.39	24.28
28	2.61	3.55	21.44	23.75
30	2.67	3.54	22.88	21.42
36	2.76	3.54	23.13	20.23
42	2.81	3.55	24.25	19.10
48	2.83	3.55	26.33	18.85
54	2.91	3.55	27.64	16.18
60	2.93	3.55	27.75	15.59
66	2.88	3.55	28.30	14.47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.49(ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลง ที่ กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	3.07	3.55	28.52	13.74
78	3.11	3.54	29.18	13.58
84	3.11	3.54	29.56	12.64
90	3.08	3.54	29.87	12.45
96	3.07	3.55	30.31	11.18
102	3.10	3.54	31.55	11.05
108	3.12	3.54	31.67	10.03
114	3.10	3.54	31.48	10.08
120	3.09	3.54	31.62	10.07

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.34 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 10 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.50 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus*ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2)20เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ37องศาเซลเซียสและไม่มีการควบคุมพีเอช

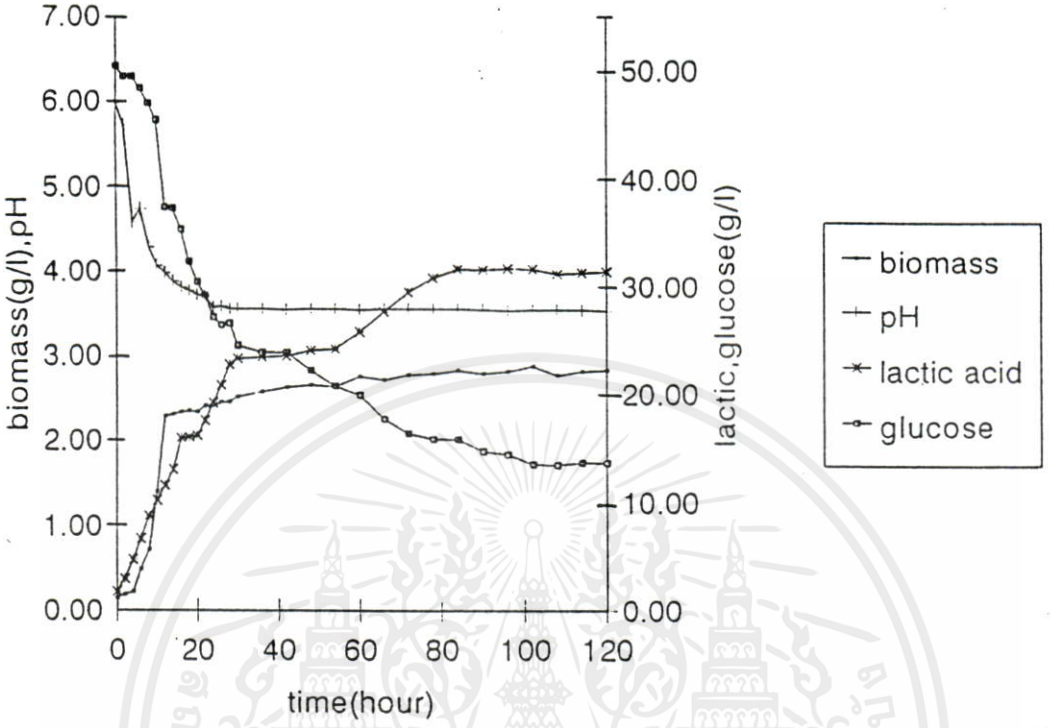
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.15	5.83	1.76	50.32
2	0.19	5.72	2.92	49.39
4	0.22	4.58	4.73	49.37
6	0.49	4.47	6.67	48.33
8	0.72	4.29	8.77	46.92
10	1.40	4.07	10.20	45.38
12	2.29	3.98	11.55	37.37
14	2.31	3.88	13.05	37.30
16	2.34	3.81	15.95	35.32
18	2.35	3.77	16.01	32.33
20	2.34	3.72	16.18	30.43
22	2.41	3.70	17.58	29.14
24	2.42	3.57	19.22	27.10
26	2.45	3.58	20.86	26.35
28	2.46	3.55	22.76	26.55
30	2.52	3.55	23.31	24.50
36	2.58	3.55	23.44	23.90
42	2.63	3.54	23.57	23.88
48	2.66	3.55	24.06	22.22
54	2.64	3.55	24.21	20.79
60	2.76	3.54	25.77	19.94
66	2.72	3.55	27.63	17.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.50(ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ปริมาณอากาศ (O_2) 20 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและไม่มีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	2.78	3.55	29.54	16.73
78	2.79	3.55	30.82	15.85
84	2.83	3.55	31.65	15.83
90	2.79	3.54	31.59	14.71
96	2.82	3.53	31.72	14.44
102	2.88	3.54	31.66	13.51
108	2.77	3.54	31.23	13.47
114	2.82	3.54	31.34	13.66
120	2.83	3.53	31.45	13.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.35 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 20 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.51 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ(O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ37องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ระดับปริมาณอากาศ (%)	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
0	0.55	0.19	0.69
5	0.49	0.16	0.51
10	0.37	0.17	0.47
20	0.24	0.15	0.29

ตารางที่4.52 การวิเคราห์ความแปรปรวนของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

SOV	DF	SS	MS	F
oxygen	3	0.246	0.082	393.439**
error	8	0.002	0.000	
total	11	0.248		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.53 ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่ กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ระดับปริมาณอากาศ (%)	ค่าเฉลี่ย
0	0.55 [a]
5	0.49 [b]
10	0.37 [c]
20	0.24 [d]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 1 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่4.54 การวิเคราห์ความแปรปรวนของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

SOV	DF	SS	MS	F
oxygen	3	0.242	0.081	118.061**
error	8	0.005	0.001	
total	11	0.247		

** ความแตกต่างมีนัยสำคัญยิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.55 ค่าเฉลี่ยประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับต่างๆ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ระดับปริมาณอากาศ (%)	ค่าเฉลี่ย
0	0.690 [a]
5	0.510 [b]
10	0.473 [c]
20	0.290 [d]

หมายเหตุ ในแต่ละ column ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรเดียวกันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อใช้ DMRT ณ ระดับนัยสำคัญ 1 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส

จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะให้น้ำหนักแห้งในชั่วโมงสุดท้าย (120 ชั่วโมง)สูงกว่าคือ 3.77 กรัมต่อลิตร ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.47 และ4.56 ภาพที่4.32 และ 4.36 น้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ส่วนที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะมีน้ำหนักแห้งสูงสุดในชั่วโมงที่ 120 เท่ากับ 2.34 กรัมต่อลิตร และน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ที่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนในด้านของปริมาณกรดแลคติกพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในชั่วโมงที่ 120 จะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงกว่าที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส คือ 37.22 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่4.47 และ4.56 และ ภาพที่ 4.32 และ 4.36 ทำให้ค่าพีเอชมีค่าต่ำกว่าด้วยคือ 3.11 ในขณะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดแลคติกในชั่วโมงสุดท้ายเท่ากับ 23.54 กรัมต่อลิตรและค่าพีเอชเท่ากับ 3.54 ส่วนปริมาณกลูโคสที่เหลือพบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสมีปริมาณกลูโคสเหลือน้อยกว่าคือ 6.12 กรัมต่อลิตร ในขณะที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสมีกลูโคสเหลืออยู่ 20.20 กรัมต่อลิตร และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า μ_{max} , $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะให้ค่าสูงกว่าคือ 0.55 ต่อชั่วโมง 0.21และ 0.69 กรัมต่อกรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.57

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ สรุปได้ดังนี้

เมื่อนำค่า μ_{max} ในตารางที่ 4.57 มาทดสอบค่าที ดังตารางที่ 4.58 พบว่าระดับอุณหภูมิในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

เมื่อนำค่า $Y_{p/s}$ ในตารางที่ 4.57 มาทดสอบค่าที ดังตารางที่ 4.59 พบว่าระดับอุณหภูมิในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ดังนั้นอุณหภูมิในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* คือที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ$Y_{p/s}$ สูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.56 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ45 องศาเซลเซียสและไม่มีการควบคุมพีเอช

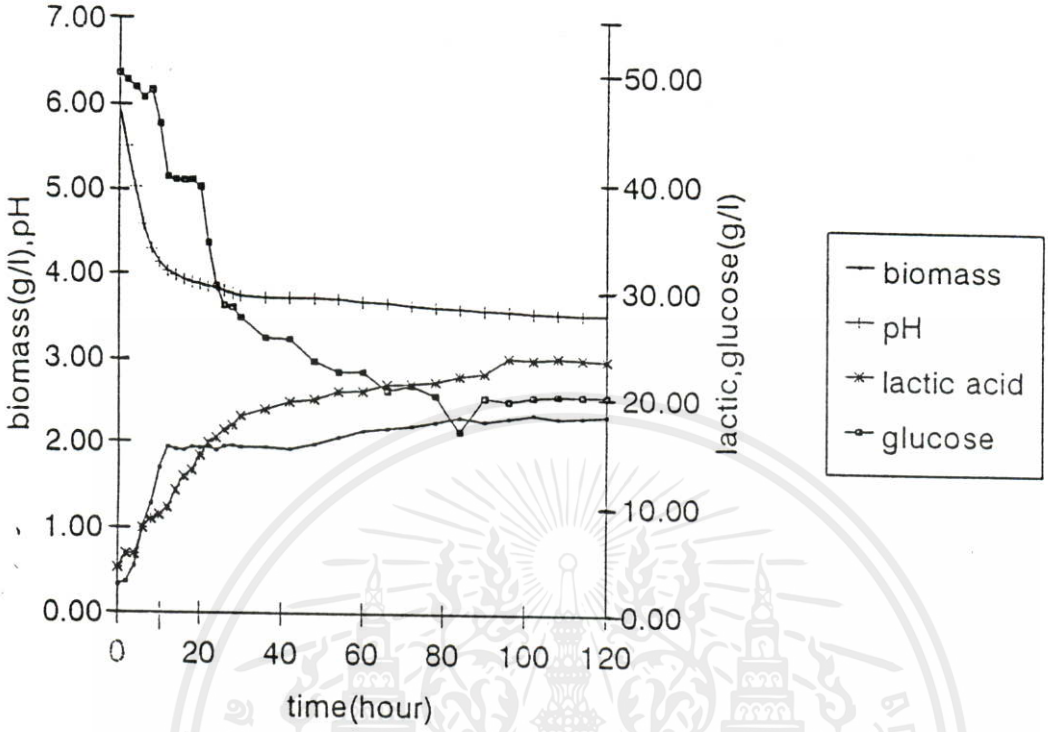
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.33	5.37	4.12	49.93
2	0.36	5.50	5.40	49.30
4	0.55	5.02	5.40	48.66
6	1.01	4.58	7.80	47.71
8	1.28	4.29	8.62	48.42
10	1.70	4.13	9.02	45.29
12	1.95	4.03	9.70	40.43
14	1.92	3.98	11.27	40.18
16	1.91	3.93	12.58	40.16
18	1.95	3.90	13.16	40.17
20	1.94	3.88	14.53	39.53
22	1.95	3.85	15.72	34.35
24	1.91	3.84	16.18	30.31
26	1.96	3.80	16.91	28.50
28	1.97	3.77	17.63	28.35
30	1.95	3.74	18.24	27.42
36	1.95	3.72	18.86	25.51
42	1.93	3.72	19.57	25.41
48	1.99	3.72	19.83	23.39
54	2.07	3.71	20.59	22.40
60	2.15	3.68	20.63	22.45
66	2.18	3.67	21.27	20.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.56(ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	พีเอช	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	2.21	3.64	21.33	21.19
78	2.26	3.62	21.54	20.24
84	2.32	3.61	22.07	19.88
90	2.27	3.59	22.35	20.05
96	2.31	3.58	23.79	19.75
102	2.35	3.56	23.63	20.14
108	2.31	3.55	23.81	20.24
114	2.32	3.54	23.67	20.21
120	2.34	3.54	23.54	20.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.36 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.57 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
37	0.48	0.21	0.69
45	0.11	0.12	0.19

ตารางที่4.58 การทดสอบค่าทีของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	$\overline{X}$	S^2	t
37	0.48	0.0011	18.5*
45	0.11	0.0001	

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.59 การทดสอบค่าทีของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็น ผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 และ 4 5 องศาเซลเซียส และไม่มีการควบคุมพีเอช

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	$\bar{X}$	S^2	t
37	0.69	0.0007	16.6*
45	0.19	0.0028	

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.3ผลการศึกษาอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช

จากผลการทดลองในถังหมักที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช พบว่าอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกในถังหมักที่มีการควบคุมพีเอชสูงกว่าที่ไม่มีการควบคุมพีเอช โดยสภาวะที่มีการควบคุมพีเอชจะให้ค่าน้ำหนักแห้งสูงกว่าซึ่งมีค่าเท่ากับ 5.70 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงสุดท้าย (120 ชั่วโมง) และน้ำหนักแห้งเริ่มคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ขณะที่สภาวะที่ไม่มีการควบคุมพีเอช จะให้น้ำหนักแห้งในชั่วโมงสุดท้ายเท่ากับ 3.77 กรัมต่อลิตร ส่วนในด้านของปริมาณกลูโคสที่เหลือพบว่า สภาวะที่มีการควบคุมพีเอชจะมีปริมาณกลูโคสที่เหลืออยู่เท่ากับ 3.05 กรัมต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าสภาวะที่ไม่มีการควบคุมพีเอช และสภาวะที่มีการควบคุมพีเอชจะให้ปริมาณกรดแลคติกสูงสุด 54.82 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่4.47และ4.60 และภาพที่4.32และ4.37 เมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า μ_{max} , $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ พบว่าสภาวะที่มีการควบคุมพีเอช จะให้ค่าสูงกว่าคือ 0.62 ต่อชั่วโมง 0.30 และ 1.24 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ดังตารางที่ 4.61

จากผลการทดลองเมื่อนำค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพของการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$)มาวิเคราะห์ผลทางสถิติ สรุปได้ดังนี้

เมื่อนำค่า μ_{max} ในตารางที่ 4.61 มาทดสอบค่าที ดังตารางที่ 4.62 พบว่าการควบคุมพีเอชในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสภาวะที่มีการควบคุมพีเอช จะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} สูงกว่าที่ไม่มีการควบคุมพีเอช

เมื่อนำค่า $Y_{p/s}$ ในตารางที่ 4.61 มาทดสอบค่าที ดังตารางที่ 4.63 พบว่าการควบคุมพีเอชในถังหมักมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยสภาวะที่มีการควบคุมพีเอช จะให้ค่าเฉลี่ย $Y_{p/s}$ สูงกว่าที่ไม่มีการควบคุมพีเอช

ดังนั้นสภาวะของพีเอชในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* คือสภาวะที่มีการควบคุมพีเอช เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่าสภาวะที่ไม่มีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.60 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคสที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอช

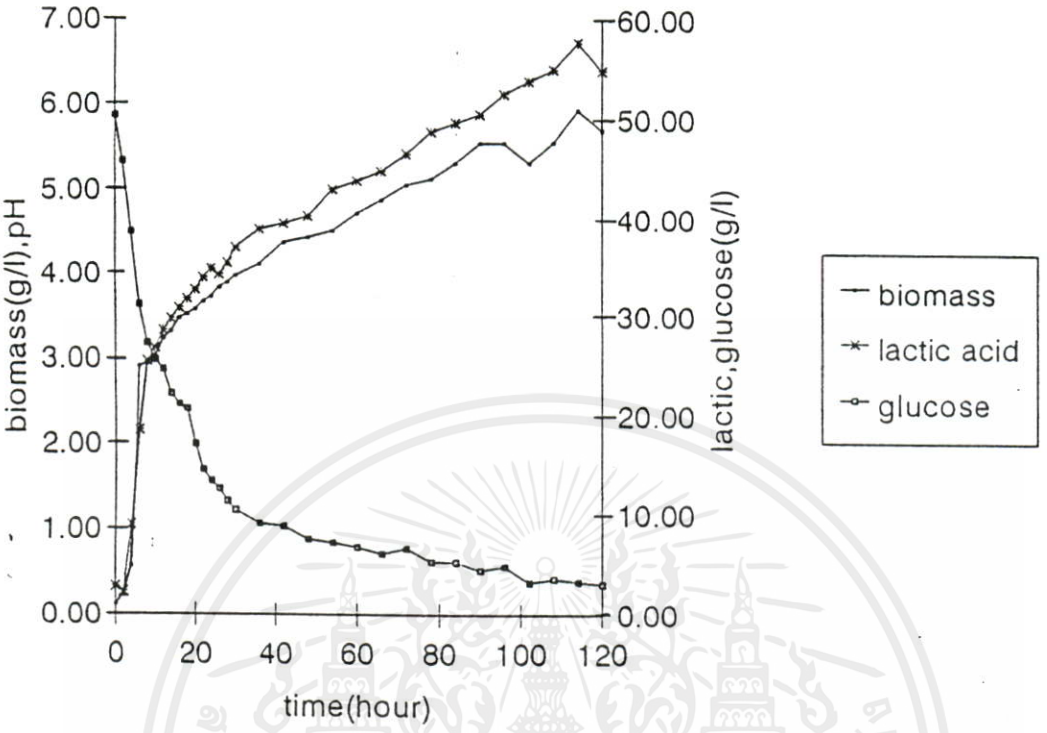
ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
0	0.12	2.77	50.28
2	0.22	5.25	45.73
4	0.57	9.00	38.59
6	2.91	18.53	31.13
8	2.94	25.46	27.25
10	3.02	26.76	25.59
12	3.23	28.53	24.63
14	3.32	29.71	22.22
16	3.47	30.80	21.17
18	3.52	31.72	20.72
20	3.58	32.63	17.15
22	3.67	33.89	14.54
24	3.73	34.78	13.43
26	3.84	34.21	12.64
28	3.90	35.40	11.39
30	3.98	37.02	10.46
36	4.12	38.86	9.12
42	4.38	39.45	8.87
48	4.44	40.21	7.56
54	4.52	42.96	7.24
60	4.73	43.82	6.77
66	4.89	44.80	6.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.60 (ต่อ) น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติก และกลูโคส ที่ระดับถังหมักสภาวะที่มีเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารสูตรดัดแปลงที่กลูโคส 50 กรัมต่อลิตร ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอช

ชั่วโมง	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)
72	5.07	46.53	6.64
78	5.14	48.74	5.28
84	5.33	49.61	5.26
90	5.56	50.47	4.43
96	5.56	52.54	4.85
102	5.33	53.81	3.21
108	5.57	54.97	3.59
114	5.94	57.66	3.27
120	5.70	54.82	3.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.37 น้ำหนักแห้ง พีเอช กรดแลคติกและกลูโคสในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลงที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.61 อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นเซลล์ ($Y_{x/s}$) และ ประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียส สภาวะที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช

พีเอช	μ_{max} (h^{-1})	$Y_{x/s}$ ($g.g^{-1}$)	$Y_{p/s}$ ($g.g^{-1}$)
มีการควบคุมพีเอช	0.62	0.30	1.24
ไม่มีการควบคุมพีเอช	0.48	0.20	0.69

ตารางที่4.62 การทดสอบค่าทีของอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช

พีเอช	$\overline{X}$	S^2	t
มีการควบคุมพีเอช	0.62	0.00005	7.36*
ไม่มีการควบคุมพีเอช	0.48	0.0011	

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.63 การทดสอบค่าทีของประสิทธิภาพในการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็น ผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) ในระดับถังหมักของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่กลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สภาวะที่มีการควบคุมและไม่มีการควบคุมพีเอช

พีเอช	$\bar{X}$	S^2	t
มีการควบคุมพีเอช	1.24	0.0039	14*
ไม่มีการควบคุมพีเอช	0.69	0.0007	

* ความแตกต่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์

เมื่อศึกษาถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* และ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* ในระดับฟลาสก์ ซึ่งได้แก่ ความเร็วรอบ ชนิดอาหาร และความเข้มข้นของสับสเตรท โดยเปรียบเทียบเชื้อ *L. delbrueckii* และ *L. casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหาร 6 ชนิด คือ MRS สำเร็จรูป MRS สูตรดัดแปลง GS MEA GYP และ GYP-$CaCO_3$ ในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกคือสภาวะนิ่งเพราะให้ค่าเฉลี่ยอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด (μ_{max}) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารอาหารไปเป็นผลิตภัณฑ์ ($Y_{p/s}$) สูงกว่าสภาวะเขย่า ทั้งนี้เพราะ Lactic Acid Bacteria เป็นพวก facultative anaerobic bacteria จึงทำให้ที่สภาวะนิ่งเหมาะสมต่อการเจริญมากกว่าที่สภาวะเขย่า (Stackebrandt และ Teuber, 1988) และสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MRS สำเร็จรูป หรือ MRS สูตรดัดแปลงเพราะให้ค่าทั้ง μ_{max} และ $Y_{p/s}$ ที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในการทดลองขั้นต่อไปเลือกใช้อาหาร MRS สูตรดัดแปลง เพราะมีราคาถูกกว่า เนื่องจากเป็นสูตรอาหารที่เตรียมขึ้นเอง แต่อาหาร MRS สำเร็จรูป เป็นสูตรอาหารที่ผสมแล้วจึงมีราคาแพงกว่า เช่นเดียวกับการทดลองของ Seibold และคณะ(1995) ที่ได้ศึกษาถึงการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus* 3 สายพันธุ์ ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง เปรียบเทียบกับอาหาร CSL (corn steep liquor) แล้วพบว่าอาหาร MRS สูตรดัดแปลง จะให้ประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติกได้ดีกว่า และเลือกใช้เชื้อ *L. casei* subsp. *rhamnosus* เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงกว่า *L. delbrueckii*

ต่อมานำเชื้อ *L. rhamnosus* มาเลี้ยงในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่สภาวะนิ่งโดยมีการปรับความเข้มข้นของกลูโคสในสูตรอาหาร ให้มีความเข้มข้น 1, 2, 5, 7 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความเข้มข้นกลูโคสในสูตรอาหารที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือ 5 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีความแตกต่างกันทางสถิติจากกลุ่มอื่น และให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 1.41 ต่อชั่วโมง 0.81 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่ระดับอื่น และพบว่าถ้าปริมาณกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นเพิ่มขึ้นก็จะทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์ และปริมาณกรดแลคติกสูงขึ้น แต่ถ้าปริมาณกลูโคสเริ่มต้นสูงมากไป ก็จะมีผลไปยับยั้งอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อได้ และจากการทดลองของ Vaccari และคณะ (1993) ก็พบว่าการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *L. casei* subsp. DSM 20011 ที่ระดับกลูโคสเริ่มต้น 4 เปอร์เซ็นต์เหมาะสมที่สุดเพราะให้ค่า μ_{max} $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ สูงที่สุด และเมื่อระดับกลูโคสเริ่มต้นสูงขึ้นจะทำให้ค่า μ_{max}, $Y_{x/s}$ และ $Y_{p/s}$ ลดลง

จากการทดลองในระดับฟลาสก์ จึงสรุปได้ว่า สภาวะที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกคือสภาวะนิ่ง ในอาหาร MRS สูตรดัดแปลง ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์ที่เลือกใช้คือ *L. casei* subsp. *rhamnosus* ซึ่งจะนำไปใช้ในระดับถังหมักต่อไป

เมื่อศึกษาถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *L. casei* subsp. *rhamnosus* ในระดับถังหมัก ซึ่งได้แก่ ปริมาณอากาศ อุณหภูมิ และสภาวะพีเอช โดยนำ *L. casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในถังหมักที่มีการปรับปริมาณอากาศ (O_2) ที่ระดับ 0, 5, 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าระดับปริมาณอากาศ (O_2) ในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือ 0 เปอร์เซ็นต์ เพราะมีความแตกต่างทางสถิติจากกลุ่มอื่นและให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ สูงสุดคือ 0.55 ต่อชั่งโมงและ 0.69 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Giuseppe และคณะ (1993) ที่พบว่าในถังหมักที่สภาวะปริมาณอากาศ (O_2) 0เปอร์เซ็นต์ โดยมีการให้แก๊สไนโตรเจน(N_2) เข้าไปแทนที่ เป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. DSM 20011 และเมื่อนำ *L. casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ (O_2) ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือ ที่ 37 องศาเซลเซียสเพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$ เท่ากับ 0.55 ต่อชั่งโมงและ 0.69 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และสอดคล้องกับการทดลองของ Hujanen และ Linko (1996) ซึ่งพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* NRRL B-441 และ *Lactobacillus casei* subsp. *rhamnosus* NRRL B- 445 คือ 37 องศาเซลเซียส และจากการทดลองของ Demirci และคณะ (1993)พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* ATCC 11443 และการทดลองของ Kandler (1983) พบว่าเชื้อ *Lactobacillus casei* ไม่สามารถเจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส

เมื่อนำ *L. casei* subsp. *rhamnosus* มาเลี้ยงในถังหมักที่มีปริมาณอากาศ (O_2) ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีการควบคุมและไม่ควบคุมพีเอช พบว่าสภาวะพีเอชในถังหมักที่เหมาะสมต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือสภาวะที่มีการควบคุมพีเอช เพราะให้ค่าเฉลี่ย μ_{max} และ $Y_{p/s}$เท่ากับ 0.62 ต่อชั่งโมง และ 1.24 กรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสภาวะที่ไม่มีการควบคุมพีเอช และสอดคล้องกับการทดลองของ Giuseppe และคณะ (1993) ที่ทำการผลิตกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* subsp. DSM 20011 ซึ่งมีการควบคุมพีเอชอยู่ที่ 6.4 และการทดลองของDutta และคณะ(1996)ได้ทำการผลิตกรดแลคติกโดยมีการควบคุมพีเอชตลอดระยะเวลาการหมัก

ในระดับถังหมักจึงสรุปได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมสำหรับอัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติก คือการใช้เชื้อ *L. casei* subsp. *rhamnosus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS สูตรดัดแปลง ที่ระดับความเข้มข้นกลูโคส 5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณอากาศ (O_2) ระดับ 0 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และมีการควบคุมพีเอชที่ 6 ตลอดระยะเวลาการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ชูศรี วงศ์รัตนะ. 2537.เทคนิคการใช้สถิติเพื่อการวิจัย.กรุงเทพฯ : ศูนย์หนังสือจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. 2537. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ :โครงการตำรา. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงพร คันธโชติ. 2530. **จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมและผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์** . กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ .

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์ .

สนอง นิลเพ็ชร์ และ ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์. 2536.สถิติการวางแผนการทดลองทางการเกษตร. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

อรไท สุขเจริญ. 2538. วิศวกรรมชีวเคมี. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

Bhattacharyya, E. 1992. **Industrial Biotechnology**. Vedpal S. Maliked.ed. Bombay :Oxford & IBH .

Benthin , S. and Villadsen, J. 1995. " Different Inhibition of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* by D-and L- Lactic Acid : Effects on Log phase, Growth Rate and Cell Yield." **J.Appl. Bacteriol.** 78 : 647-654.

Campbell, M. I. 1984. " Secondary metabolism and microbial physiology. " **Advances in Microbial Physiology** . Rose, A.H. and Tempest, D.W. ed. London : Academic Press.

Carleysmith , S. 1984." Fermenter Instrumentation and Control." **Advances in Biotechnological Processes**. Liss, A.R. ed. New York : Springer.

Cerning, J. 1990." Exocellular Polysaccharides Produced by Lactic Acid Bacteria." **FEMS Microbiol Rev**. 87 : 113-130.

Demirci ,A., Pometto,AL. And Johnson,KE. 1993. " Evaluation of Biofilm Reactor Solid Support for Mixed-Culture Lactic Acid Production." **Appl Microbiol Biotech**. 38 : 728-733.

Dutta, K. S., Mukherjee, A. And Chakraborty, P. 1996." Effect of Product Inhibition on Lactic Acid Fermentation : Simulation and Modelling." **Appl. Microbiol. Biotech** . 46 :410-413.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้ง

Hammes, W. P., Weiss, N. and Holzapfel, W. 1991. "The Genera *Lactobacillus* and *Carnobactrium*." **The Prokaryotes**. Balows, A. and Harder , W. ed. New York :Springer.

Hardie, J. M. and Whiley, R. A. 1991. "The Genus *Streptococcus*." **The Prokaryotes**. Balows, A. and Harder , W. ed. New York : Springer.

Holland ,S.J., Tighe, B.J. and Gould,P.L. 1986. "Polymer for Biodegradable Medical Devices." **Appl Biochem Biotch**, 4 : 155-160.

Holzapfel, W. H. and Schillinger ,U. 1991. "The Genus *Leuconostoc*." **The Prokaryotes**. Balows, A. and Harder , W. ed. New York : Springer.

Hujanin, M. and Linko,Y. 1996. "Effect of Temperature and Various Nitrogen Sources on L(+)-Lactic Acid Production by *Lactobacillus case*." **Appl. Microbiol. Biotech**. 45 : 307-313.

Kai-Lai ,G. and Anthony, L. 1997. " Optimization of L-(t)-Lactic Acid Production by Ring and Disc Plastic Composite Supports through Repeated-Batch Biofilm Fermentation." **App. Env. Microbiol**. 2533-2542.

Kandler, O. 1983. "Carbohydrate Metabolism in Lactic Acid Bacteria." **J.Microbiol**. 49:209-224.

Kunst, A., Draeger, B. and Ziegenborn, J. 1984. "Colorimetre Methods with Glucose Oxidase and Peroxidase ." **Method of Enzymatic Analysis**. 3 rd., Weinheim : Verlag Chemic.

Leland, A. and Richard, J. 1954. **Industrial Fermentation**. New York : Chemical Publishing.

MacKay, L. and Baldwin, K. 1990. "Applications for Biotechnology:Present and Future Improvements in Lactic Acid Bacteria." **FEMS Microbiol .Rev**. 87 : 3-14.

Marshall, VM. 1987. "Lactic Acid Bacteria: Starter for Flavour." **FEMS Microbiol Rev**. 46 : 327-336.

McNeil, B. and Harvey, L.M. 1990. **Fermentation : A Pratical Approach**. Oxford : Oxford University Press.

Monod , J. 1949. "The Growth of Bacterial Cultures." **Ann. Rev. Microbial**. 3 : 371-392.

Ohara, H., Keiichiro , H. and Toshimi, Y. 1996. "Non-Competitive Product Inhibition in Lactic Acid Fermentation from Glucose." **Appl. Microbiol. Biotech**. 36 : 773-776.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Penning, A.J. 1989." Synthesis Properties and Biomedical Applications of Poly (L-lactide)." **Biodegradable Carbohydrate-Based Polymers.** Collins, M.D. and Williams, A.m. ed. Amsterdam : Elsevier Science Publishers.

Primrose, S.B. 1991. **Molecular Biotechnology**. 2nd ed . Oxford : Blackwell Scientific Publication.

Reuter, G. 1975." Classification Problem, Ecology and Some Biochemical Activities of Lactobacilli of Meat Product." **Lactic Acid Bacteria in Beverages and Food.** Phillips, B. A. ed. London :Academic Press.

Ruoff, K. L. 1991." The genus *Streptococcus.*" **The Prokaryotes.** . Balows, A. and Harder , W. ed. New York : Springer.

Scragg, A. H. 1991. **Bioreactors in Biotechnology : A Practical Approach.** England : Ellis Horwood

Siebold, M. , Frieling,P.V.and Schugerl,K. 1995." Comparison of the Production of Lactic Acid by Three Different Lactobacilli and its Recovery by Extraction and Electrodialysis." **Process Biochem.** 30 : 81-95.

Soccol, R. C., Stonoga, V.I. and Raimbault, M. 1994." Production of L- lactic Acid by *Rhizopus* Species." **World J. Microbio. Biotech.** 10 : 433-435.

Stackebrandt ,E. and Teuber, M. 1988." Molecolar Taxonomy and Phylogenetic Position of Lactic Acid Bacteria." **Biochimie.** 70 : 317-324.

Teuber,M. 1990." Strategies for Genetic Modification of Lactococci ." **Food Biotech.** 4 : 537-546.

Teuber, M. , Geis, A. and Neve, H. 1991." The Genus *Lactococcus.* " **The Prokaryotes** . Balows, A. and Harder , W. ed. New York : Springe.

Tsai, SP. and Coleman ,RD. 1993 " Strain Screening and Development for Industrial Lactic acid Fermentation." **Appl Biochem Biotech.** 39/40 : 323-335.

Vaccari, G., Antonio, G.V. and Anna, L. 1993." Fermentative Production of L- Lactic Acid by *Lactobacillus casei* DSM 20011 and Product Recovery Using Ion Exchange Resins." **Appl. Microbiol. Biotech.** 40 : 23-27.

Venus, J. ,Idler, F. and Albrecht ,C. 1992." New Ways of Selecting Lactic Lcid Bacteria for Biotechnological Processes." **Appl. Microbiol. Biotech.** 37 : 240-243.

Verschoor, H. 1985." Developments in Bioreactors." **Chem. Eng.** 415 : 39-44.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vick,B. T., Mandel, D.K. and Wilke, C.R. 1983."The Application of Cell Recycle to Continuous Fermentive Lactic Acid Production." **Biotech. Lett.** 5 : 665-670.

Vries,D. W., Willemina, M.C. and Kapteijn, E.G. 1970." Molar Growth Yields and Fermentation Balance of *Lactobacillus casei* L3 in Batch Cultures and in Continuous Cultures." **J. Gen. Microbiol** . 63 : 333-345.

Wang , D.I.C , Cooney. C.L , Demain , A.L., Dunnill, P., Humphey, A.E. and Lilly, M.D. 1979. **Fermentation and Enzyme Technology**. New York : John Wiley & Sons.

Weiss, N . 1991."The genera *Pediococcus* and *Aerococcus* ." **The Prokaryotes**. . Balows, A. and Harder , W. ed. New York : Springer.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. สูตรอาหาร MRS สำเร็จรูป ของ Difco (in deMan, Rogosa and Sharpe) (ต่อปริมาตร1 ลิตร)

Proteose peptone	10	กรัม
Beef Extract	10	กรัม
Yeast Extract	5	กรัม
Glucose (Dextrose)	20	กรัม
Tween 80	1	มิลลิลิตร
แอมโมเนียมซิเตรต ($(NH_4)_2 C_6H_6O_7$)	2	กรัม
โซเดียมอะซิเตรต (CH_3COONa)	5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4 . H_2O$)	0.1	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 . H_2O$)	0.05	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2	กรัม
ปรับ พีเอช 6.2 ± 0.2		

ข. สูตรอาหาร MRS ดัดแปลง (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Casein hydrolysate (ของ Fluka)	10	กรัม
Meat Extract (ของ Difco)	10	กรัม
Yeast Extract(ของ Difco)	5	กรัม
Glucose	20	กรัม
Tween 80	1	มิลลิลิตร
แอมโมเนียมซิเตรต($(NH_4)_2 C_6H_6O_7$)	2	กรัม
โซเดียมอะซิเตรต (CH_3COONa)	5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต($MgSO_4 . H_2O$)	0.1	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4 . H_2O$)	0.05	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2	กรัม
ปรับ พีเอช 6.2 ± 0.2		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. สูตรอาหาร GYP (glucose yeast extract peptone medium) (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Glucose	20	กรัม
Peptone(ของ Difco)	5	กรัม
Yeast Extract(ของ Difco)	5	กรัม

ปรับ พีเอช 6.2 $\pm$ 0.2

ง. สูตรอาหาร GYP - $CaCO_3$ (glucose yeast medium with calcium) (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Glucose	20	กรัม
Peptone(ของ Difco)	5	กรัม
Yeast Extract(ของ Difco)	5	กรัม
แคลเซียมคาร์บอเนต($CaCO_3$)	0.1	กรัม

ปรับ พีเอช 6.2 $\pm$ 0.2

จ. สูตรอาหาร GS (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Yeast Extract(ของ Difco)	30	กรัม
Glucose(ของ Difco)	20	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.H_2O$)	0.6	กรัม
เฟอรัสซัลเฟต ($FeSO_4$)	0.03	กรัม
โซเดียมอะซิเตรต (CH_3COONa)	1	กรัม
ไดโพแทสเซียม ฟอสเฟต (K_2HPO_4)	0.5	กรัม
โพแทสเซียมได ฟอสเฟต(KH_2PO_4)	0.5	กรัม

ปรับ พีเอช 6.2 $\pm$ 0.2

ฉ. สูตรอาหาร MEA (ต่อปริมาตร 1 ลิตร)

Glucose	20	กรัม
Malt extract(ของ Difco)	20	กรัม
Peptone(ของ Difco)	1	กรัม

ปรับ พีเอช 6.2 $\pm$ 0.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การเตรียมสารเคมี

1. Mixed indicator

บรอมไทมอล บลู (Bromthymol blue)	0.2	กรัม
นิวทรัลเรด (Neutral red)	0.1	กรัม
ละลายในเอทานอล	300	มิลลิลิตร

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1 M NaOH)

โซเดียมไฮดรอกไซด์	4	กรัม
ละลายน้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

3. Reagent mixture

Solution 1

-100 mM sodium phosphate buffer เตรียมโดยละลาย $Na_2HPO_4.7H_2O$ 26.80 กรัม และ $NaH_2PO_4.2H_2O$ 15.60 กรัม ในน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

-Stock glucose peroxidase 0.25 มิลลิกรัม เตรียมโดยละลาย glucose peroxidase 0.005 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรโดยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

-นำ 4 - aminophenazone 0.163 กรัมละลายใน 100 mM Sodium phosphate buffer และสารละลาย Stock glucose peroxidase 0.5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรโดยสารละลาย 100 mM Sodium phosphate buffer ให้ได้ 500 มิลลิลิตร

Solution 2 (560 mM phenol)

เตรียมโดยสารละลาย phenol 5.27 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรโดยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

Reagent mixture

ผสม Solution 1 และ 2 ในอัตราส่วน 100 : 2 (V/V)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ถังหมัก

(fermentor)

ถังหมักที่ใช้ในการทดลองจะเป็นถังหมักแบบ Stired tank รุ่น BIOSTAT ® C type C 10-3 (B.Braun) ปริมาตรใช้งาน (working volume) 10 ลิตร อัตราส่วนระหว่างความสูงต่อเส้นผ่าศูนย์กลางภายในเท่ากับ 3:1 ภายในถังหมักจะประกอบด้วยใบพัดชนิด Rushton turbine และบัฟเฟิล 4 อันซึ่งติดด้านข้างของถังหมักเป็นตัวช่วยที่ทำให้อาหารผสมกันดีขึ้น ลักษณะและส่วนประกอบของถังหมัก ดังภาพ ค - 1 ส่วนบนของถังหมัก ดังภาพ ค - 2 และลักษณะและส่วนประกอบของถังหมักที่ใช้ในการทดลอง ดังภาพ ค - 3

ระบบควบคุมถังหมัก

1. Digital Control Unit (DCU)

เป็นระบบอัตโนมัติ สำหรับควบคุมการทำงานของอุปกรณ์ภายในถังหมัก โดยจะทำการปรับค่าและควบคุม อุณหภูมิ พีเอช ความเร็วรอบ ปริมาณอากาศและการฆ่าเชื้อ ภายในถังหมัก

2. อุณหภูมิ

ตัวเซ็นเซอร์ที่วัดอุณหภูมิเป็นชนิด Pt 100 (Platinum resistant thermometer) ซึ่งการวัดและการควบคุมอุณหภูมิจะถูกควบคุมด้วยระบบ DCU โดยจะมีการส่งสัญญาณไปยังระบบเปิด-ปิดวาวล์น้ำที่จะส่งไปยังส่วนที่หุ้มถังหมักในกรณีที่อุณหภูมิต่างไปจากค่าที่ตั้งไว้ ถ้าอุณหภูมิภายในถังหมักสูงกว่าค่าที่ตั้งไว้น้ำเย็นก็จะไหลไปยังส่วนที่หุ้มถังหมักไว้เพื่อให้อุณหภูมิภายในถังหมักลดลง แต่ถ้าอุณหภูมิภายในถังหมักต่ำกว่าค่าที่ตั้งไว้น้ำที่อยู่ในส่วนที่หุ้มถังหมักก็จะถูกทำให้ร้อนขึ้นเพื่อให้อุณหภูมิภายในถังหมักสูงขึ้นตามค่าที่ตั้งไว้

3. พีเอช

ประกอบด้วย pH electrode type 465-50-sc-p-s7 โดยการปรับค่าและวัดค่าจะถูกควบคุมด้วยระบบ DCU ซึ่งจะควบคุมการจ่ายสารละลายกรดและสารละลายด่างจากปั๊มเพื่อให้ได้ค่าพีเอชที่ตั้งไว้ ในการทดลองมีสารละลายกรดที่ใช้คือ 10% H_2SO_4 และสารละลายด่างที่ใช้คือ 2M NaOH การปรับค่าพีเอชมี 2 ขั้นตอนคือ 1) ปรับค่า Zero โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) ปรับค่า Slope โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4.01

4. ฟอง

ในการทดลองมีการเกิดฟองไม่มากจึงไม่ต้องใช้ระบบควบคุมในการเติม antifoam แต่จะทำการใส่ antifoam 1 มิลลิลิตรต่ออาหาร 10 ลิตร ในอาหารก่อนการฆ่าเชื้อ

5. การกวน

ความเร็วของใบพัดจะถูกควบคุมด้วยระบบ DCU ซึ่งในการทดลองจะให้ความเร็วใบพัดเท่ากับ 10 รอบต่อนาที

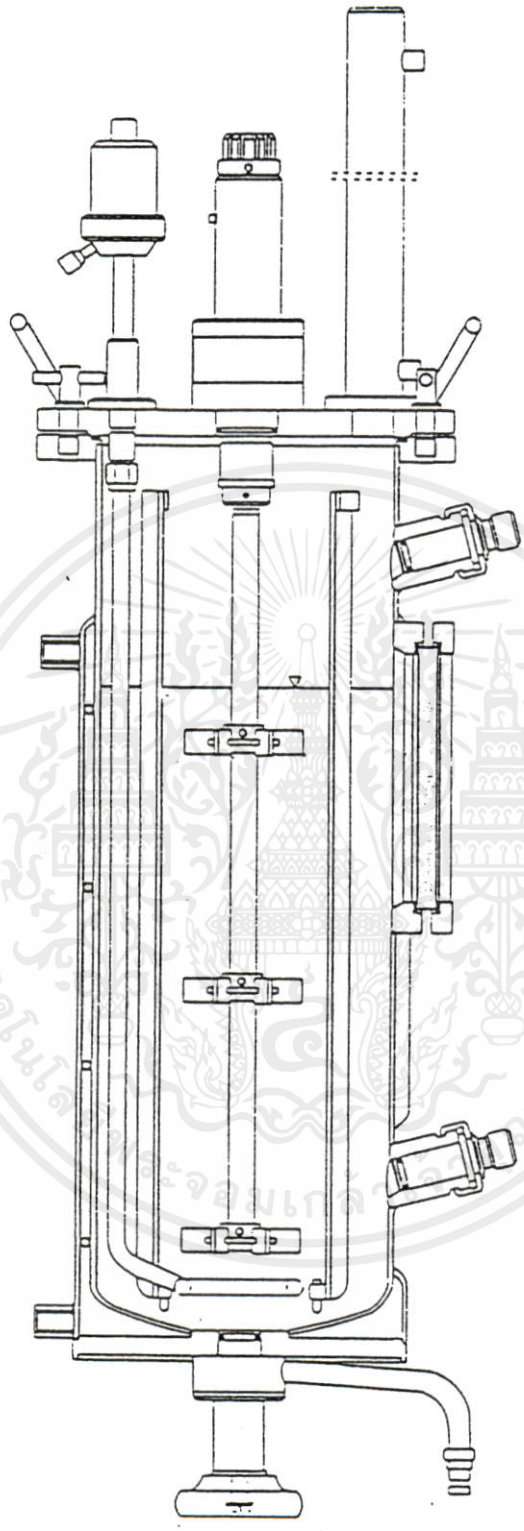
6. ปริมาณอากาศ

ปริมาณอากาศจะถูกควบคุมด้วยระบบ DCU เพื่อให้ได้ค่าตามที่ตั้งไว้โดยอากาศจะถูกนำเข้ามาทางส่วนบนของถังหมัก ซึ่งจะต้องผ่านตัวกรองอากาศก่อนและอากาศที่จะถูกนำออกไปจะต้องผ่านตัวกรองอากาศเช่นกัน ตัวกรองอากาศจะถูกฆ่าเชื้อพร้อมกับอาหารโดยการฆ่าเชื้อแบบอัตโนมัติ

7. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ (Dissolved oxygen)

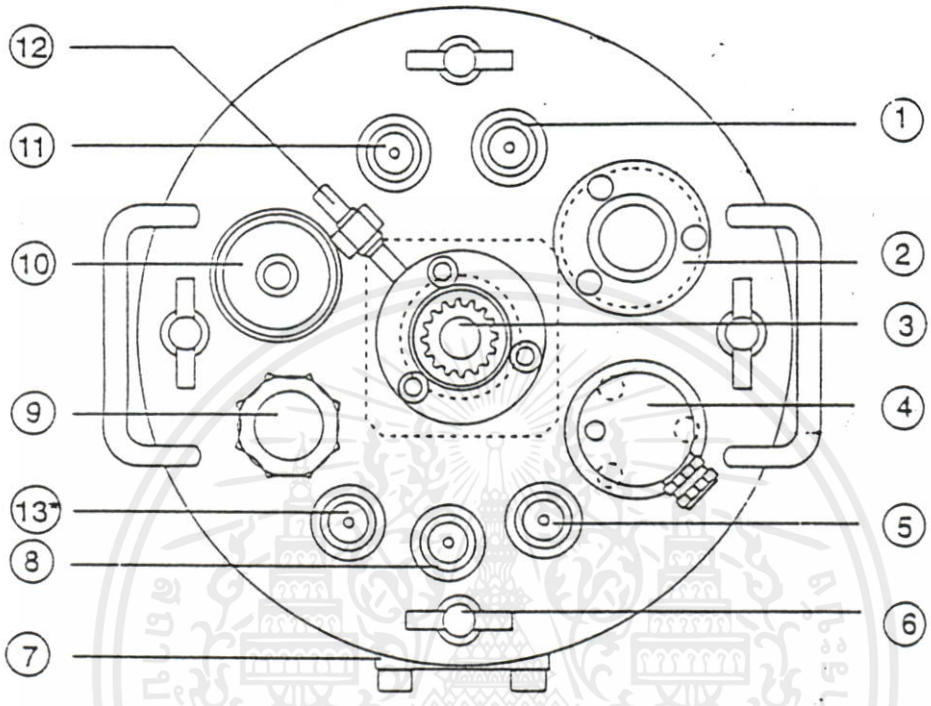
การปรับค่าและการทำงานจะถูกควบคุมด้วยระบบ DCU และการปรับค่า DO-electrode ทำได้ดังนี้คือ 1) ปรับค่า DO ไปที่ 0 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจนโดยใช้แก๊สไนโตรเจนเข้าไปแทนที่หรือปรับในระหว่างการฆ่าเชื้ออาหารเนื่องจากในสภาวะนี้ภายในถังหมักจะเป็นสุญญากาศหรือมีปริมาณออกซิเจนเข้าใกล้ศูนย์ 2) ปรับค่า DO ไปที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจน โดยจะเป่าอากาศเข้าสู่ถังหมักในสภาวะเดียวกับการทดลองจริง จนปริมาตรอากาศในถังหมักคงที่ จึงปรับค่าเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ ออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพ ค-1 แสดงลักษณะและส่วนประกอบของถังหมัก

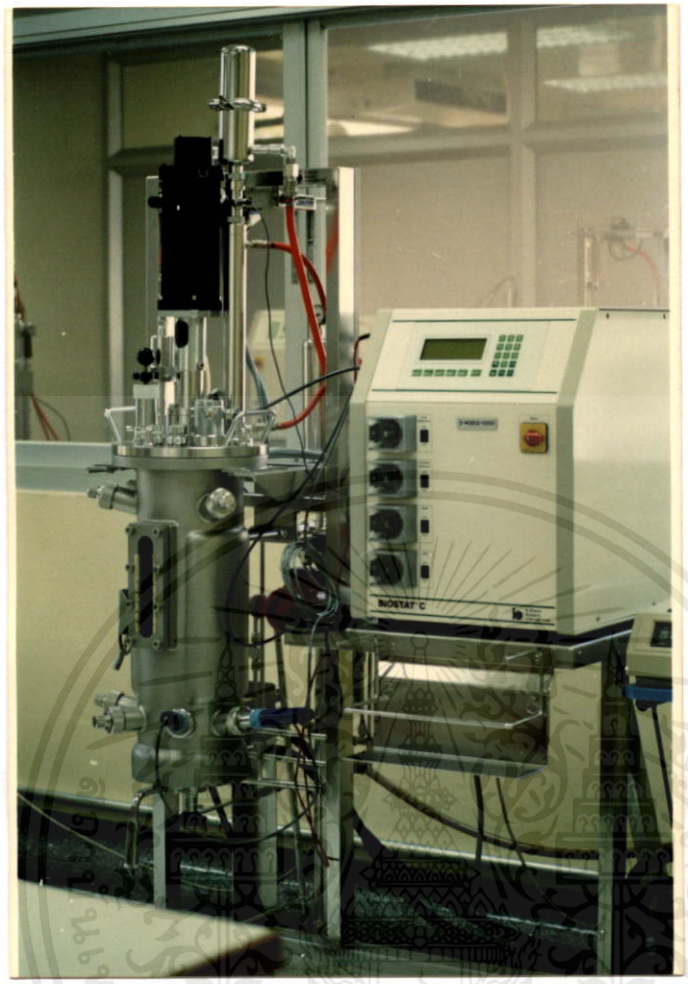


ภาพ ค - 2 แสดงลักษณะและส่วนประกอบส่วนบนของถังหมัก

ส่วนประกอบส่วนบนของถังหมัก

1. Antifoam probe
2. Exhaust cooler
3. Stirrer shaft
4. Viewing port
5. Spare port
6. Thumb screws
7. Viewing window
8. Reserve port
9. Relief valve
10. Air inlet filter
11. Level electrode
12. Condensate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

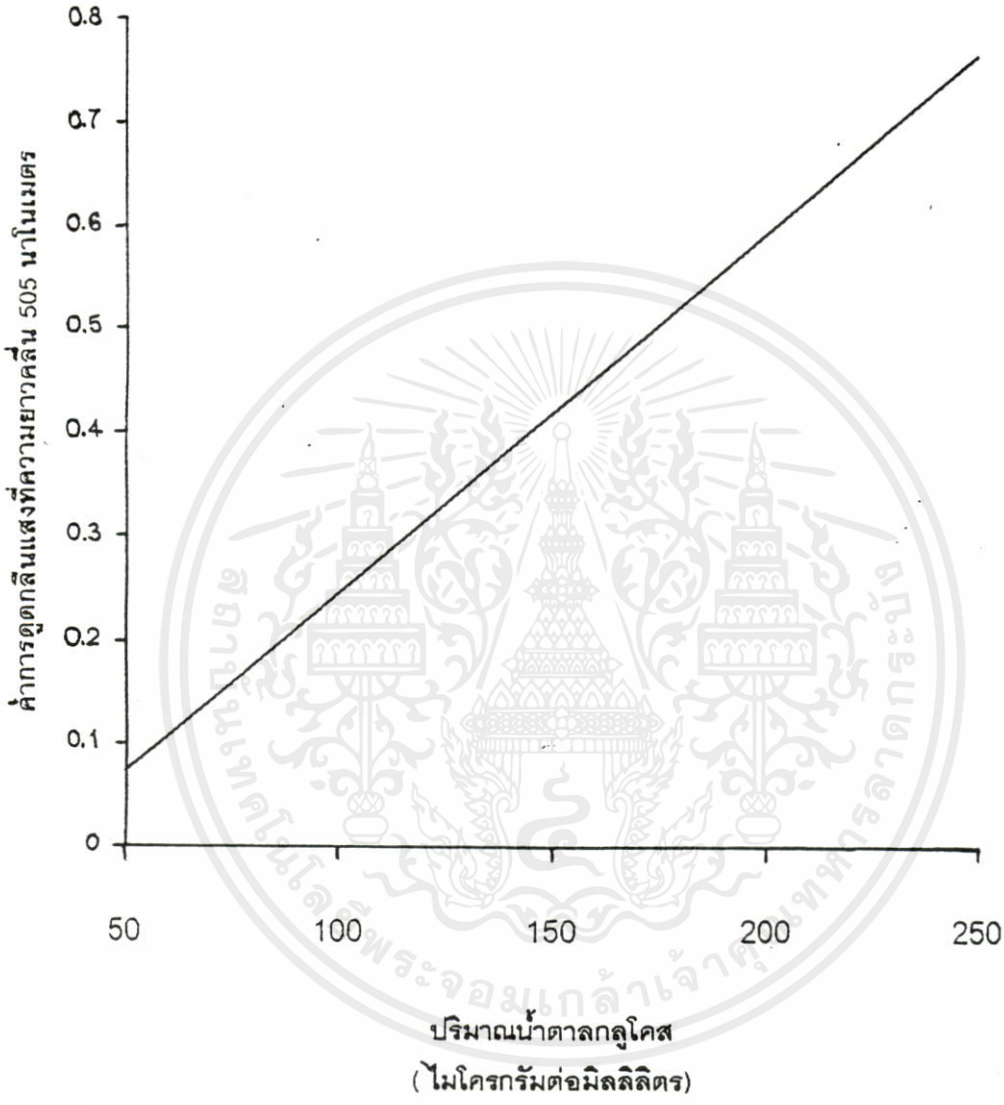


ภาพที่ ค-3 ลักษณะและส่วนประกอบของถังหมักที่ใช้ในการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

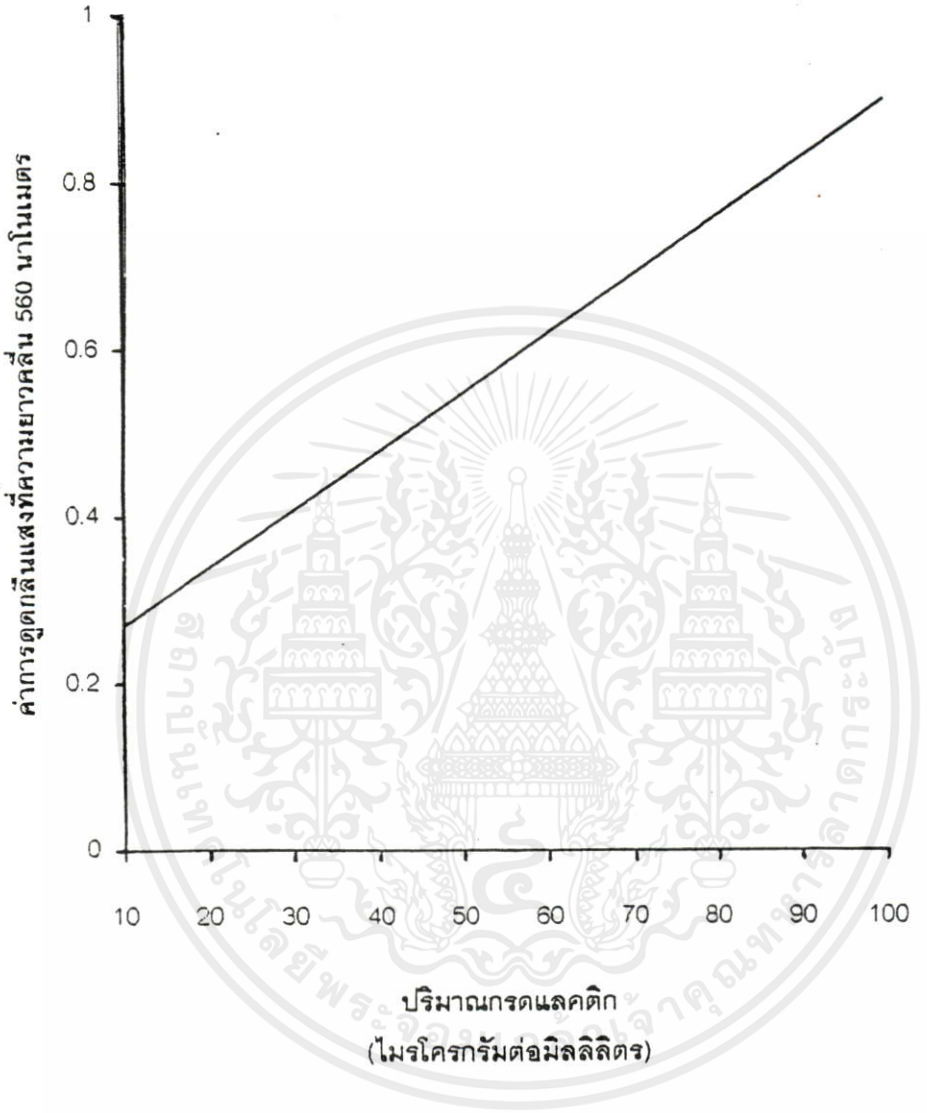
ภาคผนวก ง.

กราฟมาตราฐาน



ภาพ ง-1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกูลโคสทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพ ง-2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแลคติกทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวกรองจิตต์ ช้างแก้ว เกิดเมื่อวันที่ 27 พฤษภาคม 2517 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี คณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาปฐพีวิทยา จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2537 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้