

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของประเด็นการวิจัย

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีความสำคัญอย่างมากในอุตสาหกรรมหลายประเภท เนื่องจากถูกนำไปใช้อย่างกว้างขวางในงานหลายด้าน เช่น

(1) ด้านอาหาร ใช้ในการแต่งกลิ่น รส และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร ใช้ในการถนอมอาหารไม่ให้เน่าเสีย และใช้เป็นตัวช่วยปรับสภาพความเป็นกรดในอาหารบางชนิด เป็นต้น

(2) ด้านการแพทย์ ใช้พอลิแลคติกแอซิด (polylactic acid) ในการทำไหมเย็บแผลที่ละลายได้ ใช้เป็นสารตัวกลางในอุตสาหกรรมการผลิตยา ใช้เป็นยาแก้ท้องเสียโดยใช้ในรูปของเอทิลแลคเตท (ethyl lactate) และใช้เป็นสารช่วยห้ามเลือด โดยใช้ในรูปของแคลเซียมแลคเตทไตรไฮเดรต (calcium lactate trihydrate) เป็นต้น

(3) ด้านการเกษตร ใช้แอมโมเนียมแลคเตท (ammonium lactate) เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์ ใช้แคลเซียมแลคเตทไตรไฮเดรต เพื่อยืดอายุผลผลิตทางการเกษตร ใช้ไอโซโพรพิลแลคเตท (isopropyl lactate) ในอุตสาหกรรมการผลิตยาฆ่าแมลง และยาปราบศัตรูพืช เป็นต้น

(4) ด้านอื่นๆ เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเซลโลเฟน (cellophane) การผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ (biodegradable plastic) โดยใช้ในรูปของพอลิแลคติกแอซิด การผลิตสบู่โดยใช้ในรูปโซเดียมแลคเตท (sodium lactate) ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตวงจรอิเล็กทรอนิกส์ อุตสาหกรรมการผลิตยาง และอุตสาหกรรมการผลิตสิ่งทอ เป็นต้น

กรดแลคติกสามารถผลิตได้ 2 วิธี คือ วิธีทางเคมี และวิธีทางชีวภาพ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ากรดแลคติกประมาณ 80,000 ตัน ที่ผลิตขึ้นในโลกต่อปี ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ ผลิตโดยวิธีทางชีวภาพ โดยใช้กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ (Hofvendahl และ Hähn-Hagerdal 2000) Wee และคณะ (2006) รายงานว่าปริมาณการใช้กรดแลคติกทั่วโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยมีค่าประมาณ 130,000 – 150,000 เมตริกตันต่อปี ซึ่งอาจเนื่องมาจากการขยายตัวที่รวดเร็วของตลาด lactic acid-derived biodegradable polymer

กรดแลคติกสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกหรือแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria, LAB) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) ไม่สร้างสปอร์ และผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักระหว่างกระบวนการหมักโดยใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน (Hofvendahl และ Hähn-Hagerdal 2000; Konings และคณะ 2000) แบคทีเรียกลุ่มนี้พบในน้ำเสีย ในพืช ในอาหาร ผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม เนื้อหมัก และผักดอง ในระบบลำไส้และทางเดินหายใจของมนุษย์และสัตว์ (Hammes และคณะ 1991) แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเกือบทั้งหมด (มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์) เป็นกรดแลคติกผ่านวิถีไกลิโคไลซิส (glycolysis pathway)

ปัญหาของการผลิตกรดแลคติกทางชีวภาพ หรือโดยการใช้กระบวนการหมักของจุลินทรีย์ในปัจจุบันคือ ต้นทุนของวัตถุดิบมีราคาสูง Tejayadi และ Cheryan (1995) รายงานว่าต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตกรดแลคติกสูงถึง 68 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด ในขณะที่ Akerberg และ Zacchi (2000) รายงานว่าต้นทุนของวัตถุดิบในการผลิตกรดแลคติกสูงกว่า 34 เปอร์เซ็นต์ ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าวจึงควรหาวัตถุดิบอื่นที่มีศักยภาพที่จะใช้ผลิตกรดแลคติกในระดับ

อุตสาหกรรม ซึ่งควรเป็นวัตถุดิบที่มีราคาถูก หาได้ง่าย มีการปนเปื้อนต่ำ มีอัตราการหมักสูง มีผลพลอยได้เกิดขึ้นน้อย และสามารถหาได้อย่างต่อเนื่อง เช่น วัสดุกลีโนเซลลูโลส เป็นต้น ข้าวฟ่างหวาน (*Sorghom bicolor* L. Moench) เป็นพืชชนิดหนึ่งที่ได้มีการศึกษาและพัฒนาอย่างต่อเนื่องเพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอล เนื่องจากเป็นพืชที่มีความทนทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี และคุณภาพของน้ำคั้นจากข้าวฟ่างหวานมีความใกล้เคียงกับน้ำคั้นจากอ้อย ซึ่งสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเอทานอลได้โดยตรง นอกจากนี้ข้าวฟ่างหวานยังมีช่วงการเจริญเติบโตและเก็บเกี่ยวผลผลิตสั้นประมาณ 100 – 140 วัน โดยเฉลี่ย 1 ปี สามารถปลูกได้ถึง 3 ครั้ง ในขณะที่อ้อยปลูกได้ปีละ 1 ครั้ง ข้าวฟ่างหวานปลูกได้ง่ายโดยใช้เมล็ดพันธุ์เพียง 1.5 กิโลกรัมต่อไร่ อัตราขยายพันธุ์ 1 ต่อ 1000 ในขณะที่อ้อยมีอัตราการขยายพันธุ์เพียง 1 ต่อ 10 จึงทำให้ต้นทุนของการปลูกข้าวฟ่างหวานต่ำกว่าอ้อยมาก (ประสิทธิ์ ใจศีล 2547) ปัจจุบันข้าวฟ่างหวานได้รับการส่งเสริมให้เป็นวัตถุดิบส่งโรงงานเอทานอล เพื่อเตรียมรับมือกับอ้อย มันสำปะหลัง และกากน้ำตาลที่อาจเกิดการขาดแคลนในอนาคต โดยส่วนประกอบของข้าวฟ่างหวานที่จะนำมาใช้เพื่อป้อนให้กับโรงงานผลิตเอทานอล คือส่วนลำต้นที่จะมาคั้นเป็นน้ำ ส่วนของชานข้าวฟ่างยังไม่มีมีการนำไปศึกษามากนัก มีรายงานว่าโรงงานน้ำตาลขอนแก่นได้มีการทดลองปลูกข้าวฟ่างหวานแล้ว และได้ผลผลิตประมาณ 5 - 6 ตันต่อไร่ (กรุงเทพฯธุรกิจ 2547) ส่วนบริษัทไทยอะโกรเอนเนอร์จี้ อำเภอด่านช้าง จังหวัดสุพรรณบุรี สนใจในการนำข้าวฟ่างหวานมาผลิตเอทานอลเช่นกัน (พืชพลังงาน 2550) โดยสามารถปลูกข้าวฟ่างหวานได้ผลผลิตสูงถึง 10 ตันต่อไร่ (ประสิทธิ์ 2550)

เมื่อหีบน้ำตาลออกจากลำต้นข้าวฟ่างหวานแล้ว จะเหลือชานข้าวฟ่างหวานเป็นจำนวนมาก ชานข้าวฟ่างหวานเป็นวัสดุกลีโนเซลลูโลส หากนำมาย่อยจะได้น้ำตาลกลูโคสและไซโลสเป็นน้ำตาลหลัก ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตกรดแลคติกได้ (Laopaiboon และคณะ 2010) อย่างไรก็ตามไม่ใช่แลคติกแอซิดแบคทีเรียทุกชนิดจะสามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้ Laopaiboon (2001), Thani และคณะ (2006) และ Laopaiboon และคณะ (2010) พบว่า *Lactococcus lactis* IO-1 ซึ่งเป็นโฮโมเฟอร์เมนทเททีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (homo-fermentative lactic acid bacteria) สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และ/หรือน้ำตาลไซโลส โดยผ่านทางวิถี Embden-Meyerhof-Parnas และ phosphoketolase pathway ตามลำดับ

จากการศึกษาเบื้องต้นของคณะผู้วิจัย (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ 2552) พบว่า น้ำคั้นจากลำต้นข้าวฟ่างหวานสามารถนำมาใช้ผลิตกรดแลคติกได้ โดยเมื่อเลี้ยง *Lc. lactis* IO-1 ในน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานปลอดเชื้อที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้น 9.0 องศาบริกซ์ และเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร ในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่มีปริมาตรทำงาน 1 ลิตร โดยควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที พบว่า *Lc. lactis* IO-1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้ 55.62 กรัมต่อลิตร และมีอัตราผลผลิตและผลได้กรดแลคติก 1.16 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 0.71 กรัมของกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาลที่ถูกใช้ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานได้รับความสนใจในการนำไปผลิตเป็นเอทานอลมากกว่า นอกจากนี้ Laopaiboon และคณะ (2010) พบว่าไฮโดรไลสหรือน้ำย่อยชานอ้อย สามารถใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตกรดแลคติกได้ โดยไฮโดรไลสที่ได้มีน้ำตาลกลูโคสและไซโลส 1.50 และ 22.59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำน้ำย่อยดังกล่าวมาปรับปริมาณน้ำตาลไซโลสให้เป็น 30 กรัมต่อลิตร และเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาหมักโดย *Lc. lactis* IO-1 จะได้กรดแลคติก 10.85 กรัมต่อลิตร

Thani (2006) พบว่า ชานอ้อยที่ผ่านการย่อยด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ไฮโดรไลสที่ได้ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาล

ไซโลส โดยไฮโดรไลเซตดังกล่าวไม่สามารถนำมาใช้หมักกรดแลคติกโดย *L. lactis* IO-1 ได้โดยตรง ยกเว้นเมื่อเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร

ลักษณะ เหล่าไพบูลย์ และคณะ (2550) พบว่า กากเซลล์ยีสต์แห้งของโรงงานเบียร์สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมในการหมักเพื่อผลิตเอทานอลแบบกะจากน้ำคั้นลำต้นข้าวฟ่างหวานภายใต้สภาวะ Very high gravity (VHG) แทนการใช้ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 9 กรัมต่อลิตร โดยสามารถเพิ่มความเข้มข้นของเอทานอลได้ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมักที่ไม่มีการเติมสารอาหาร

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่า รำข้าวซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรสามารถนำกลับมาใช้เป็นวัตถุดิบในกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ได้ เช่น การผลิตกรดแลคติก เป็นต้น (Tanaka และคณะ, 2006; Taniguchi และคณะ, 2005; Yun และคณะ, 2004; Gao และคณะ, 2008)

ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่กากเซลล์ยีสต์แห้ง (ซึ่งเป็นผลพลอยได้ของการผลิตเบียร์) และรำข้าวจะสามารถนำมาใช้แทนยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ที่มีราคาแพงในการผลิตกรดแลคติกจากน้ำย่อยชานข้าวฟ่างหวานได้โดยใช้ *L. lactis* IO-1 โดยกากเซลล์ยีสต์แห้งของโรงงานเบียร์ทิพย์ จ. อุดรธานี มีราคาประมาณ 15 บาท ต่อ 1 กิโลกรัม ส่วนรำข้าวมีราคาประมาณ 10 บาท ต่อ 1 กิโลกรัม ในขณะที่ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์มีราคาสูงกว่า 3000 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งถ้าใช้ในปริมาณที่เท่ากันในการผลิตกรดแลคติกจะสามารถลดต้นทุนของสารอาหารเสริมได้สูงถึงอย่างน้อย 200 และ 300 เท่า ตามลำดับ

จากข้อมูลข้างต้นพบว่า *L. lactis* IO-1 สามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นวัสดุเหลือใช้ของอุตสาหกรรมได้ อย่างไรก็ตาม ชานอ้อยและชานข้าวฟ่างหวานมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาทั้งในแง่ของสภาวะที่ใช้ในการย่อยวัสดุเหลือใช้ของอุตสาหกรรมเพื่อให้ได้น้ำตาลที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ ในปริมาณที่สูง และศึกษาปัจจัยต่างๆ โดยเฉพาะสารอาหารเสริมที่มีผลต่อการใช้น้ำย่อยหรือไฮโดรไลเซตที่ได้มาเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาการนำชานข้าวฟ่างหวานซึ่งเป็นวัสดุที่เหลือหลังจากการหีบเอาน้ำหวานออกจากลำต้นแล้วมาเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้น โดยการย่อยหรือไฮโดรไลซ์ด้วยกรดให้ได้น้ำตาลความเข้มข้นสูงแต่มีสารยับยั้ง (inhibitors) ต่ำ (ปีที่ 1) และศึกษาแหล่งของสารอาหารเสริมราคาถูกที่มีผลต่อการใช้ไฮโดรไลเซตที่ได้มาเพื่อผลิตเป็นกรดแลคติกภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะโดยใช้แบคทีเรีย *L. lactis* IO-1 (ปีที่ 2)

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาผลของสารอาหารต่อการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตของชานข้าวฟ่างหวานโดยแบคทีเรีย *L. lactis* IO-1 โดยมีวัตถุประสงค์ย่อยดังนี้

1. ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตของชานข้าวฟ่างหวานที่เติมและไม่เติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์
2. ศึกษาผลของการเติมกากเซลล์ยีสต์แห้งต่อการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตของชานข้าวฟ่างหวาน
3. ศึกษาผลของการเติมรำข้าวต่อการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตของชานข้าวฟ่างหวาน
4. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเซตของชานข้าวฟ่างหวานภายใต้สภาวะต่างๆ