

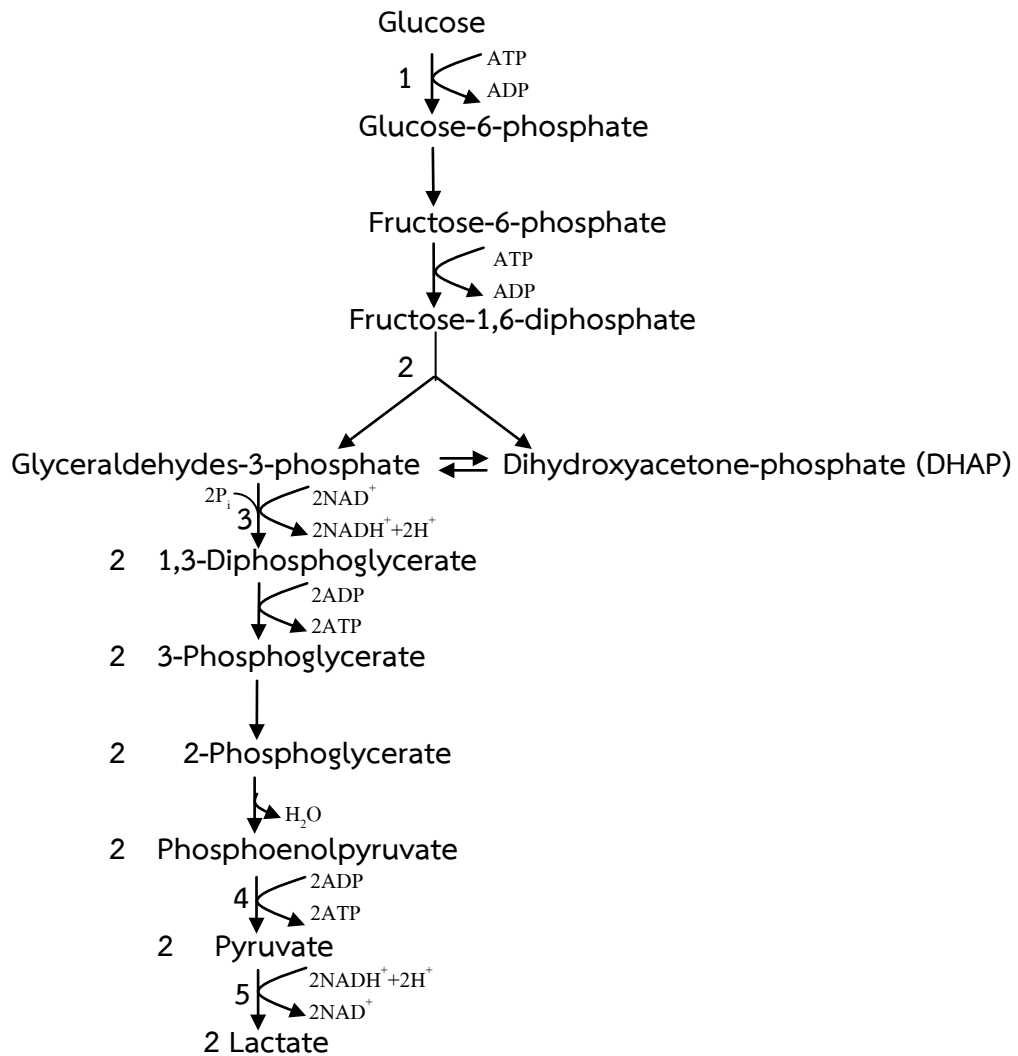
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

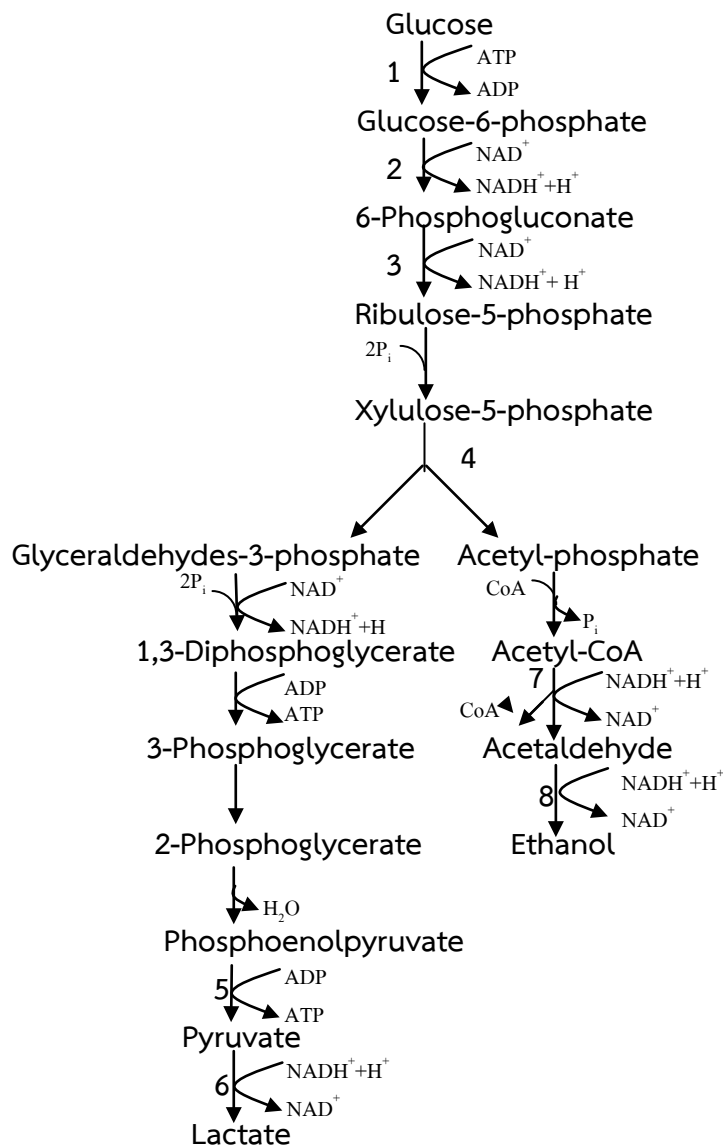
2.1 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) มีรูปร่างกลม (cocci) หรือแท่ง (rod) เคลื่อนที่ไม่ได้ (nonmotile) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่ผลิตเอนไซม์คะตาเลส (catalase) เจริญได้ทั้งในที่ไม่มีอากาศ (anaerobic condition) และในที่ที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย (microaerophile) ผลิตรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักระหว่างกระบวนการหมัก โดยใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงาน (Kandler 1983; Axelsson 1993; Hofvendahl และ Hähn-Hagerdal 2000; Konings และคณะ 2000) แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถพบได้ในอาหารหมักดอง (เช่น เนื้อหมัก ผักดอง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมหมัก และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์บางชนิด เป็นต้น) ลำไส้ ปาก และทางเดินอาหารทั้งมนุษย์และสัตว์ (Hammes และคณะ 1991)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือโฮโมแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (homo-lactic acid bacteria) แลคติกแอซิดแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติกได้มากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ โดยผ่านวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis/EMP pathway) จำนวนโมลของกรดแลคติกและพลังงานที่ได้มีค่าเท่ากับ 2 โมล (โมลของกรดแลคติกต่อโมลของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้) และ 2 โมล ATP ตามลำดับ (รูปที่ 2.1) ส่วนในกลุ่มของเฮเทอโรแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (hetero-lactic acid bacteria) จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติก และเอทานอล ด้วยจำนวนโมลที่เท่ากัน โดยผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) (Axelsson 1993) จำนวนโมลของกรดแลคติกและพลังงานที่ได้เท่ากับ 1 โมล (โมลของกรดแลคติกต่อโมลของน้ำตาลกลูโคสที่ถูกใช้) และ 1 โมล ATP ตามลำดับ (รูปที่ 2.2) ตัวอย่างของแลคติกแอซิดแบคทีเรียได้แก่ *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Oenococcus*, *Weissella*, *Aerococcus* และ *Vaganococcus* (Stiles และ Hozapfel 1997)



รูปที่ 2.1 วิถีไกลโคไลซิส 1: glucokinase; 2: fructose-1,6-diphosphate aldolase; 3: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; 4: pyruvate kinase; 5: lactate dehydrogenase (Axelsson 1993)



รูปที่ 2.2 วิธีฟอสโฟคีโตเลส 1: glucokinase; 2: glucose-6-phosphate dehydrogenase; 3: 6-phosphogluconate dehydrogenase; 4: phosphoketolase; 5: pyruvate kinase; 6: lactate dehydrogenase; 7: acetaldehyde dehydrogenase; 8: alcohol dehydrogenase (Axelsson 1993)

2.2 ชนิดของกรดแลกติก

กรดแลกติกที่ผลิตจากแลกติกแอซิดแบคทีเรีย มี 2 ชนิด คือ L(+) และ D(-) (รูปที่ 2.3) ซึ่งชนิดของกรดแลกติกดังกล่าวที่ผลิตขึ้นโดยแลกติกแอซิดแบคทีเรียจะขึ้นกับจีนัส (genus) และสปีชีส์ (species) ของแลกติกแอซิดแบคทีเรีย เช่น *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Tetragenococcus*, *Streptococcus* และ *Vaganococcus* จะผลิตกรดแลกติก L(+) ในขณะที่ *Leuconostoc* และ *Oenococcus* จะผลิตกรดแลกติก D(-) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแลกติกแอซิด

แบคทีเรียบางกลุ่มที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้ทั้ง L(+) และ D(-) เช่น *Lactobacillus*, *Pediococcus* และ *Weissella* (Garvie 1980; Bottazzi 1988; Stiles และ Holzapfel 1997 อ้างถึงใน Liu 2003)

มนุษย์และสัตว์สามารถใช้กรดแลคติกในรูปของ L(+) เท่านั้น เพราะภายในร่างกายของมนุษย์และสัตว์มีเอนไซม์ L-lactate dehydrogenase ดังนั้นมนุษย์และสัตว์จึงไม่สามารถใช้กรดแลคติกในรูปของ D(-) ได้ หากร่างกายมีการสะสมกรดแลคติกชนิด D(-) ในปริมาณมาก (เกิน 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักร่างกาย 1 กิโลกรัม ต่อ 1 วัน) จะส่งผลให้มีการสะสมของกรดแลคติกดังกล่าวในเลือดสูงขึ้น ทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า hyperacidity (Akerberg และ Zacchi 2000)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของกรดแลคติก (optical isomeric form) (Akerberg และ Zacchi 2000)

2.3 ประโยชน์ของกรดแลคติก

กระบวนการหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกด้วยจุลินทรีย์เป็นสิ่งที่มีความจำเป็น และมีความต้องการอย่างมากเพื่อใช้ในการถนอมอาหารเพราะเป็นกระบวนการที่มีต้นทุนต่ำกว่ากระบวนการอื่นๆ ใช้พลังงานน้อยในกระบวนการผลิตและการเตรียมวัตถุดิบเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้ยังมีความหลากหลายของกลิ่นรส (Oda และคณะ 2000) จากการสำรวจของ Hofvendahl และ Hahn-Hägerdal (2000) พบว่ามีการผลิตกรดแลคติกประมาณ 80,000 ตันทั่วโลก และปริมาณของกรดแลคติก 90 เปอร์เซ็นต์ ได้จากกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ และส่วนที่เหลือได้จากกระบวนการทางเคมี ปัจจุบันกรดแลคติกถูกนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากขึ้น เช่น

2.3.1 อาหาร

1. ใช้ในการแต่งกลิ่น รส และเนื้อสัมผัส (flavour development) ของผลิตภัณฑ์อาหาร
2. ใช้ในการถนอมอาหาร (preservative) ไม่ให้เน่าเสีย
3. ใช้เป็นตัวช่วยปรับสภาพความเป็นกรด (acidulant) ในอาหารบางชนิด

2.3.2 การแพทย์

1. ใช้พอลิแลคติกแอซิด (poly lactic acid) ในการทำไหมเย็บแผลที่ละลายได้
2. ใช้เป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในอุตสาหกรรมการผลิตยา
3. ใช้เป็นยาแก้อักเสบ (anti-inflammatory drug) โดยใช้ในรูปของเอทิลแลคเตท (ethyl lactate)
4. ใช้เป็นสารช่วยห้ามเลือด (proof coagulant) โดยใช้ในรูปของแคลเซียมแลคเตทไตรไฮเดรต (calcium lactate trihydrate)

2.3.3 การเกษตรกรรม

1. ใช้แอมโมเนียมแลคเตท (ammonium lactate) เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์
2. ใช้แคลเซียมแลคเตทไตรไฮเดรต เพื่อยืดอายุผลผลิตทางการเกษตร

3. ใช้ไอโซโพรพิลแลคเตท (isopropyl lactate) ในอุตสาหกรรมการผลิตยาฆ่าแมลงและยาปราบศัตรูพืช

2.3.4 อุตสาหกรรมอื่น ๆ

1. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเซลโลเฟน (cellophane)
2. ใช้ในการผลิตพลาสติกที่ย่อยสลายได้ (biodegradable plastic) ในรูปของพอลิแลคติกแอซิด
3. ใช้โซเดียมแลคเตท (sodium lactate) ในอุตสาหกรรมการผลิตสบู่
4. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตวงจรอิเล็กทรอนิกส์
5. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตยาง
6. ใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตสิ่งทอ (textile)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างกรดแลคติก

2.4.1 พีเอช

แลคติกแอซิดแบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 4.5-6.5) Liu (2003) รายงานว่า *Lactobacillus bulgaricus* สามารถผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้น้ำตาลกลูโคสในสภาวะที่เป็นกรด ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่เป็นด่าง พบว่า *Lb. bulgaricus* มีการสร้างกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าพีเอชมีอิทธิพลต่อเมแทบอลิซึมของไพรูเวตและการผลิตกรดแลคติกของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Champagne และคณะ 1989; Bobillo และ Marshall 1992 อ้างถึงใน Liu 2003) อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Wee และคณะ (2006) พบว่า *E. faecalis* RKY1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณสูงจากการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในสภาวะที่เป็นกลาง (พีเอช 7.0) ซึ่งปริมาณกรดแลคติกที่ได้มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณกรดแลคติกที่เลี้ยงในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 6.0)

2.4.2 ออกซิเจน

โดยทั่วไปแลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน นอกจากนี้ยังพบว่าออกซิเจนมีผลต่อเมแทบอลิซึมของการผลิตกรดแลคติก (โฮโมหรือเฮเทอโรเฟอร์เมนเทชัน) Condon (1987) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *Leuconostoc* sp. ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน พบว่า *Ln.* sp. มีการผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจน พบว่า *Ln.* sp. มีการสร้างกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ในขณะที่ Tseng และ Montville (1993) รายงานว่าออกซิเจนมีผลต่อไพรูเวตเมแทบอลิซึมของ *Lb. plantarum* ซึ่งออกซิเจนจะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยนแลคเตทไปเป็นอะซิเตต และคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ Maicas และคณะ (2002) รายงานว่า เมื่อเลี้ยง *Oenococcus oeni* ในสภาวะที่มีออกซิเจน พบว่า *O. oeni* มีการเจริญที่ค่อนข้างต่ำและออกซิเจนยังมีผลทำให้กระบวนการหมักเปลี่ยนจากโฮโมแลคติกแอซิดเฟอร์เมนเทชัน (homo lactic acid fermentation) เป็นเฮเทอโรแลคติกแอซิดเฟอร์เมนเทชัน (hetero lactic acid fermentation) ส่งผลให้ปริมาณกรดแลคติกที่สร้างขึ้นมีค่าลดลง

2.4.3 ปริมาณและชนิดของสับสเตรต

ปริมาณและชนิดของสับสเตรตที่ใช้ในกระบวนการหมักของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย มีผลต่อการสร้างผลิตภัณฑ์ โดยพบว่าเมื่อเลี้ยง *Lc. lactis* แบบกะในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสจำกัดพบว่าปริมาณของกรดแลคติกที่ถูกสร้างขึ้นลดลง และมีการสร้างกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และเอทานอลเพิ่มขึ้น

ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยง *Lc. lactis* ในอาหารที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคสเพียงพอ พบว่า *Lc. lactis* ผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก (มากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์) และมีการผลิตกรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และเอทานอลเพียงเล็กน้อย (Thomas และคณะ 1987) นอกจากนี้ยังพบว่าผลการทดลองดังกล่าวข้างต้นคล้ายกับผลการทดลองเลี้ยง *Lb. casei* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะ (de Vries และคณะ 1970; Thomas และคณะ 1987) นอกจากการจำกัดปริมาณของสับสเตรตแล้ว ชนิดของสับสเตรตยังมีผลต่อการสร้างกรดแลคติก โดยพบว่า *Lc. lactis* จะผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้น้ำตาลกลูโคส ในขณะเดียวกันเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลมอลโตสและกาแลคโตสพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ถูกสร้างขึ้นลดลงและมีการสร้างกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น (Thomas และคณะ 1987) นอกจากนี้ชนิดของสับสเตรตยังมีผลต่อการผลิตกรดแลคติกในจุลินทรีย์ชนิดอื่น จากการรายงานของ Bulut และคณะ (2004) พบว่าเมื่อเลี้ยง *Rhizopus oryzae* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน *R. oryzae* สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่า (ประมาณ 3 เท่า) เมื่อเปรียบเทียบกับเลี้ยง *R. oryzae* ในอาหารที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน

2.4.4 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการหมักมีบทบาทสำคัญในการแสดงออกของเอนไซม์บางชนิดที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดแลคติกในแลคติกแอซิดแบคทีเรีย โดยพบว่าการแสดงออกของเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจิเนส (lactate dehydrogenase) ใน *Lb. rhamnosus* ที่เลี้ยงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีค่าลดลง และส่งผลให้การผลิตกรดแลคติกที่สภาวะดังกล่าวลดลงด้วย เมื่อเปรียบเทียบกับเลี้ยง *Lb. rhamnosus* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (de Figueroa และคณะ 2001) และจากการรายงานของ Kwon และคณะ (2000) พบว่า เมื่อเลี้ยง *Lb. rhamnosus* ในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส *Lb. rhamnosus* สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2.5 วัสดุกลีโนเซลลูโลสเพื่อผลิตกรดแลคติก

Amartey และ Jeffries (1994); Ishizaki (1997); Rodríguez-Chong และคณะ (2004); Mosier และคณะ (2005) พบว่า วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์หลายชนิด เช่น เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส เมื่อนำมาไฮโดรไลซ์จะได้น้ำตาลกลูโคสและไซโลส ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมักได้ (Lynd และคณะ 1999; Aristidou และ Penttilä 2000) Ishizaki (1997) รายงานว่าวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมน้ำมันปาล์มมีประมาณ 30,000,000 ตันต่อปี ถ้าไฮโดรไลซ์จะได้กลูโคสประมาณ 3,000,000 ตันต่อปี และไซโลสประมาณ 2,000,000 ตันต่อปี ซึ่งน้ำตาลเหล่านี้จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ใหญ่ที่สุดเมื่อเทียบกับภาคอื่น ๆ ของประเทศ ผลผลิตทางการเกษตรที่ได้ค่อนข้างสูง ซึ่งทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรค่อนข้างสูงตามไปด้วย นอกจากการปลูกมันสำปะหลังและอ้อยแล้ว ข้าวฟ่างหวานกำลังได้รับความสนใจจากเกษตรกรเป็นอย่างมาก เนื่องจากให้ผลผลิตเร็วกว่าอ้อยและมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวสั้นกว่าอ้อยถึง 3 เท่า เมื่อหีบน้ำตาลออกจากลำต้นข้าวฟ่างหวานแล้ว จะเหลือขานข้าวฟ่างหวานที่เป็นวัสดุกลีโนเซลลูโลส หากนำมาไฮโดรไลซ์จะได้กลูโคสและไซโลสเป็นน้ำตาลหลัก ซึ่งสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการผลิตกรดแลคติกได้ อย่างไรก็ตามไม่ใช่แลคติกแอซิดแบคทีเรียทุกชนิดจะสามารถใช้น้ำตาลไซโลสได้ Laopaiboon (2001), Thani และคณะ (2006) และ Laopaiboon และคณะ (2010) พบว่า *Lc. lactis*

IO-1 ซึ่งเป็นโฮโมเฟอร์เมนทีฟแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (homo-fermentative lactic acid bacteria) สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส และ/หรือน้ำตาลไซโลส โดยผ่านทางวิถี Embden-Meyerhof-Parnas และ phosphoketolase pathway ตามลำดับ

Laopaiboon และคณะ (2010) พบว่า ไฮโดรไลสของชานอ้อย สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อผลิตกรดแลคติกได้ โดยไฮโดรไลสที่ได้มีน้ำตาลกลูโคส และไซโลส 1.50 และ 22.59 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเนื่องจากปริมาณน้ำตาลไซโลสเริ่มต้นมีผลต่อปริมาณกรดแลคติกที่สร้างขึ้น (Thani และคณะ 2006) ดังนั้นจึงนำไฮโดรไลสดังกล่าวมาปรับปริมาณน้ำตาลไซโลสให้เป็น 30 กรัมต่อลิตร แล้วนำมาหมักโดย *Lc. lactis* IO-1 พบว่าได้กรดแลคติกสูงถึง 10.85 กรัมต่อลิตร

จากข้อมูลข้างต้น *Lc. lactis* IO-1 สามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นวัสดุกลีโนเซลลูโลสได้ อย่างไรก็ตามชานอ้อยและชานข้าวฟ่างหวานมีองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาทั้งในแง่ของสภาวะที่ใช้ในการย่อยวัสดุกลีโนเซลลูโลสเพื่อให้ได้น้ำตาลที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ปริมาณที่สูง โดยหาสภาวะที่สามารถย่อยได้น้ำตาลไซโลสไม่น้อยกว่า 30 กรัมต่อลิตร (หากน้ำตาลไซโลสต่ำกว่า 30 กรัมต่อลิตร จะได้กรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักแทน) และศึกษาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการใช้น้ำย่อยหรือไฮโดรไลสที่ได้ในการผลิตกรดแลคติก นอกจากนี้การผลิตกรดแลคติกจากชานลำต้นข้าวฟ่างหวานที่ผ่านการไฮโดรไลซ์จะเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งให้สูงขึ้น โดยหากสามารถย่อยหรือไฮโดรไลซ์ชานข้าวฟ่างหวานด้วยกรดได้น้ำตาลสูงแต่มีสารยับยั้งที่เกิดจากการย่อยต่ำ จะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลสที่ได้โดยใช้ *Lc. lactis* IO-1

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

Arasaratnam และคณะ (1996) ศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคสโดย *Lb. delbrueckii* ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิห้อง พีเอช 6.5 ผลการทดลองพบว่า เมื่อเลี้ยง *Lb. delbrueckii* ในสูตรอาหารพื้นฐานที่มีน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร และไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน *Lb. delbrueckii* ไม่สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้หมด และพบว่าที่เวลา 72 ชั่วโมง น้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกเพียง 12 กรัมต่อลิตร ในขณะที่เดียวกันเมื่อมีการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ (10 กรัมต่อลิตร) ในสูตรอาหารพื้นฐานที่มีน้ำตาลกลูโคส 30 กรัมต่อลิตร พบว่า *Lb. delbrueckii* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสหมดภายในเวลา 48 ชั่วโมง ที่เวลาดังกล่าวพบกรดแลคติก 22.5 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังพบว่า การเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์เป็นแหล่งไนโตรเจนจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต

ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์และเพปโตนนอกจากจะมีแหล่งไนโตรเจนแล้วยังมีสารอาหารชนิดอื่น เช่น กรดอะมิโน เพปไทด์ วิตามินบี และกรดอินทรีย์บางชนิด (เช่น กรดไพรูวิก และกรดกลีเซอริก) ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีผลต่อการเจริญและการสร้างผลิตภัณฑ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามจากการรายงานของ Arasaratnam และคณะ (1996) พบว่ามีแลคติกแอซิดแบคทีเรียในกลุ่มของแลคโตบาซิลลี (*Lactobacilli*) สามารถใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจนในการเจริญและการสร้างกรดแลคติก นอกจากนี้ยังพบว่าแอมโมเนียมซัลเฟตถูกนำไปใช้ในการสร้างกรดอะมิโนบางชนิดและโปรตีนภายในเซลล์

Dominquez และคณะ (1997) พบว่า การไฮโดรไลซ์ซึ่งข้าวโพดด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (10 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) สามารถสกัดกลีโนได้ในปริมาณสูง เมื่อนำซึ่งข้าวโพดไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกและ/หรือกรดซัลฟูริก พบว่าจะได้น้ำตาลไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่มี

ปริมาณสูง (ประมาณ 130 กรัมต่อลิตร) เนื่องจากสารละลายต่างจะทำให้ลิกนินซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความแข็งแรง เกิดการยืดหยุ่นและพองตัว ทำให้ลิกนินสามารถละลายในน้ำได้มากขึ้น และเมื่อนำไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรดจะทำให้ได้น้ำตาลในปริมาณสูง และพบว่าการไฮโดรไลซ์ซึ่งข้าวโพดด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ก่อนที่จะนำไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรดสามารถลดปริมาณสารยับยั้งลงได้ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Cao และคณะ (1996)

Lopes de Felipe และ Hugenholtz (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน โดย *Lc. lactis* NZ9800 ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบกะ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 ผลการทดลองพบว่าน้ำตาลกลูโคสมากกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกโดยผ่านวิถีไกลโคไลซิส

Senthuran และคณะ (1999) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกโดย *Lb. casei* ในรูปของเซลล์ตรึง (immobilized cells) และเซลล์อิสระ (free cells) ซึ่งมีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะซ้ำ (recycle batch) ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า น้ำตาลแลคโตสส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก และพบว่าการใช้เซลล์ตรึงรูปจะมีประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกมากกว่าการใช้เซลล์อิสระในทุกสภาวะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตสเท่ากัน อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการผลิตกรดแลคติกของเซลล์ตรึงรูปมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลแลคโตส และจำนวนครั้งของการใช้เม็ดเซลล์ตรึงรูปเพิ่มขึ้น

Kwon และคณะ (2000) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคสและแลคโตสที่ได้จากการไฮโดรไลซ์กากถั่วเหลือง โดย *Lb. rhamnosus* ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 อัตราการกวน 150 รอบต่อนาที โดยนำสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์กากถั่วเหลืองมาเติมด้วยวิตามินต่างๆ จากการทดลองพบว่าการเติมวิตามินจะช่วยเพิ่มอัตราผลผลิต (productivity) กรดแลคติก โดยเฉพาะการเติมวิตามินในรูปของกรดแพนโทเทนิค (pantothenic acid) ร่วมกับการเติมซอโยโทน (soytone) 19.3 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า *Enterococcus faecalis* RKY1 สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงถึง 125 กรัมต่อลิตร (จากน้ำตาลกลูโคส 150 กรัมต่อลิตร) และให้ผลได้ (yield) ของกรดแลคติกและอัตราผลผลิตกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 92 เปอร์เซ็นต์ และ 2.27 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ

แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่ต้องการอาหารสมบูรณ์ในการเจริญ Garde และคณะ (2002) รายงานว่าการเติมแหล่งไนโตรเจนลงในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ผลอินทผลัม มีผลต่ออัตราการเจริญและการผลิตกรดแลคติกของ *Lb. casei* subsp. *rhamnosus*

Guyot และ Morlon-Guyot (2001) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกัน โดย *Lb. manihotivorans* OND32^T ผลการทดลองพบว่า น้ำตาลกลูโคส มอลโตส เซลโบโอส ฟรุคโตส และซูโครส ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ในการสร้างกรดแลคติก 12.1, 9.1, 11.6, 9.7 และ 10.2 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ผลได้ของกรดแลคติกที่สภาวะดังกล่าวเท่ากับ 0.95, 0.93, 0.96, 0.82 และ 0.83 กรัมกรดแลคติกต่อกรัมน้ำตาล ตามลำดับ ในขณะที่ผลได้ของเซลล์มีค่าเท่ากับ 0.07, 0.11, 0.11, 0.08 และ 0.06 กรัมเซลล์แห้งต่อกรัมน้ำตาล ตามลำดับ

Nancib และคณะ (2001) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตกรดแลคติกโดย *Lb. casei* subsp. *rhamnosus* ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ผลอินทผลัม (date) เป็นแหล่งคาร์บอน และใช้แหล่งไนโตรเจน 5 ชนิด คือ ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ เพปโตน แอมโมเนียมซัลเฟต ยูเรีย และน้ำแช่ฟางข้าวโพด

เมื่อเลี้ยง *Lb. casei* subsp. *rhamnosus* ในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ผลอินทผลัมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแตกต่างกัน (10, 20, 40, 60 และ 80 กรัมต่อลิตร) โดยไม่มีการเติมแหล่งไนโตรเจน พบว่า *Lb. casei* subsp. *rhamnosus* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสในสารละลายได้ ปริมาณเซลล์และกรดแลกติกมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในสารละลาย (10-60 กรัมต่อลิตร) และพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร จะได้เซลล์และกรดแลกติกสูงสุดเท่ากับ 2.24 และ 32 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งเซลล์และกรดแลกติกที่ได้นี้มีค่าต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ใช้อาหาร MRS (de Man, Rogosa and Sharpe) ที่เติมน้ำตาลกลูโคส 50 กรัมต่อลิตร โดยมีค่า 5.8 และ 45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณเซลล์และกรดแลกติกที่ได้มีค่าต่ำเนื่องจากขาดแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการนำไปใช้ในการเจริญของเซลล์ เมื่อแปรผันปริมาณยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ (0, 5, 10, 20 และ 30 กรัมต่อลิตร) ลงในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ผลอินทผลัม (ที่มีน้ำตาลกลูโคส 60 กรัมต่อลิตร) พบว่าปริมาณเซลล์และกรดแลกติกมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญตามความเข้มข้นของยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ (0 - 20 กรัมต่อลิตร) โดยเซลล์และกรดแลกติกสูงสุดมีค่าเท่ากับ 5.81 และ 46 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ที่มีความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร และพบว่า การเติมไนโตรเจนมีผลทำให้เซลล์สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในสารละลายได้มากขึ้น โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเพียง 6.4 กรัมต่อลิตร เมื่อเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 20 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบชนิดของแหล่งไนโตรเจน (ที่ความเข้มข้นเท่ากัน) ต่อการผลิตกรดแลกติก พบว่าการเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ (20 กรัมต่อลิตร) ให้อัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด อัตราผลผลิตกรดแลกติก และเปอร์เซ็นต์การใช้สับสเตรต สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่น

Yun และ Ryu (2001) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากแหล่งคาร์บอนต่างชนิดกันโดย *E. faecalis* RKY1 ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส พีเอช 7.0 อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่า น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และมอลโตส (อย่างละ 150 กรัมต่อลิตร) ส่วนใหญ่ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลกติกผ่านกระบวนการหมักแบบโฮโมแลกติกแอซิดเฟอว์เมนต์เทชัน อัตราผลผลิตกรดแลกติกจากการใช้น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และมอลโตสเท่ากับ 3.56, 4.12 และ 3.54 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ความเข้มข้นของกรดแลกติกที่ได้เท่ากับ 139, 144 และ 138 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อเลี้ยง *E. faecalis* RKY1 ในสูตรอาหารที่มีน้ำตาลผสมระหว่างกลูโคสกับฟรุคโตส ฟรุคโตสกับมอลโตส และกลูโคสกับมอลโตส พบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสหรือฟรุคโตสของ *E. faecalis* RKY1 มีผลไปกีดการใช้ น้ำตาลมอลโตส ส่งผลให้ *E. faecalis* RKY1 ไม่สามารถใช้น้ำตาลมอลโตสได้หมด และยังพบว่า ปริมาณกรดแลกติกที่สร้างขึ้นในช่วงที่ *E. faecalis* RKY1 มีการใช้น้ำตาลกลูโคสหรือฟรุคโตส มีผลไปยังการเจริญของเซลล์ ทำให้ผลได้และอัตราการเจริญจำเพาะของเซลล์มีค่าลดลง

Garde และคณะ (2002) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ฟางข้าวสาลี (wheat straw) ที่มีน้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอน โดย *Lb. pentosus* และ *Lb. brevis* ภายใต้การหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 33.5 องศาเซลเซียส ผลการทดลองพบว่า *Lb. pentosus* และ *Lb. brevis* สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในสารละลายได้ และน้ำตาลไซโลส (8.1 กรัมต่อลิตร) ถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลกติก 6.7 และ 4.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่า เมื่อเลี้ยง *Lb. pentosus* และ *Lb. brevis* ร่วมกันจะสามารถผลิตกรดแลกติกได้มากกว่าการใช้เชื้อบริสุทธิ์เพียงชนิดเดียว โดยพบว่าน้ำตาลไซโลสถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลกติกได้มากถึง 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Garde และคณะ (2002) พบว่า *Lb. pentosus* และ *Lb. brevis* สามารถใช้น้ำตาลอะราบิโนสที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ฟางข้าวในสภาวะที่มีการ

เติมแหล่งไนโตรเจนอย่างเพียงพอ ซึ่งการใช้น้ำตาลอะราบินอสของแลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ดังกล่าวจะเกิดขึ้นหลังจากที่มีการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลไซโลสหมดแล้วเท่านั้น

Aguilar และคณะ (2002) ศึกษาการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริก พบว่าการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริกที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) อุณหภูมิ 122 องศาเซลเซียส ที่เวลา 24 นาที เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ ที่สภาวะดังกล่าวพบปริมาณน้ำตาลไซโลส น้ำตาลกลูโคส กรดอะซิติก และเฟอฟูรอล เท่ากับ 21.6, 3, 3.65 และ 0.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลไซโลสส่วนหนึ่งถูกเปลี่ยนเป็นเฟอฟูรอล ในขณะที่น้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนเป็นไฮดรอกซีเมทิลเฟอฟูรอล เมื่อความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้นซึ่งผลการทดลองนี้คล้ายกับผลการทดลองของ Kim และ Lee (1987)

Patel และคณะ (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากไฮโดรไลเสทที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยด้วยกรดซัลฟูริกโดยใช้ *Bacillus* sp. strain 17C5 พบว่าเมื่อหมักกรดแลคติกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 5 ได้กรดแลคติก มากกว่า 5.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (89 เปอร์เซ็นต์ ของผลได้ตามทฤษฎี; 0.9 กรัมแลคเตทต่อกรัมกลูโคส) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์

Rodriguez-Chong และคณะ (2004) พบว่าน้ำตาลกลูโคสที่ได้ส่วนใหญ่มาจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส เนื่องจากเซลลูโลสมีความไวในการทำปฏิกิริยากับกรดไนตริกมากกว่า อย่างไรก็ตาม Aguilar และคณะ (2002) รายงานว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของกรดที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ตลอดจนสภาวะที่ใช้ในการทดลอง สำหรับน้ำตาลอะราบินอสได้มาจากการไฮโดรไลซิสของอะราบินโนไซด์ (arabinoxylan) ซึ่งเป็นเฮเทอโรพอลิเมอร์ (heteropolymer) ของเอมิเซลลูโลส ในขณะเดียวกันการสลายตัวของหมู่อะซิดิลที่ต่ออยู่กับไซด์แลนจะทำให้เกิดกรดอะซิติกในระหว่างกระบวนการไฮโดรไลซิส (Garrote และคณะ 2001) ส่วนเฟอฟูรอลเป็นสารในกลุ่มอัลดีไฮด์ (aldehyde) ที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลเพนโตส (เช่น น้ำตาลไซโลส และอะราบินโนส) โดยเฉพาะในกรณีการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยในสภาวะที่มีความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิสูงพบว่า มีการเกิดเฟอฟูรอลสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ การไฮโดรไลซ์ขานอ้อยในสภาวะที่มีความเข้มข้นของกรดและอุณหภูมิต่ำ (Dominquez และคณะ 1997; Aguilar และคณะ 2002; Rodriguez-Chong และคณะ 2004)

Rodriguez-Chong และคณะ (2004) พบว่าเมื่อไฮโดรไลซ์ขานอ้อยด้วยกรดไนตริก 6 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะได้น้ำตาลไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์หลักซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 21 กรัมต่อลิตร ที่เวลา 180 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำตาลไซโลสจะลดลงเมื่ออุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้น

Wee และคณะ (2004) ศึกษาการผลิตกรดแลคติกจากกากน้ำตาลด้วย *E. faecalis* RKY1 ภายใต้สภาวะการหมักแบบกะ โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 38 องศาเซลเซียส พีเอช 7.0 อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่า เมื่อเลี้ยง *E. faecalis* RKY1 ในสูตรอาหารที่มีกากน้ำตาล 200 กรัมต่อลิตร (น้ำตาลรวมเท่ากับ 102 กรัมต่อลิตร) น้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้มากถึง 95.7 กรัมต่อลิตร ผลได้และอัตราผลผลิตกรดแลคติกมีค่าเท่ากับ 94.9 เปอร์เซ็นต์ และ 4 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าเท่ากับ 14.4 กรัมต่อลิตร และยังพบว่าปริมาณกรดแลคติกที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เติม นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่า เมื่อเติมยีสต์อีคซ์แทรกท์ 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจนจะให้น้ำหนักเซลล์แห้งและอัตราผลผลิตกรดแลคติกสูงสุดเท่ากับ 16.1 กรัมต่อลิตร และ 5.3 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราผลผลิตกรดแลคติกและน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าลดลงเมื่อเลี้ยง *E. faecalis* RKY1 ในสูตรอาหารที่มีกากน้ำตาล 333 กรัมต่อลิตร

เนื่องจากความเข้มข้นของสับสเตรตและปริมาณกรดแลกติกที่สร้างขึ้น มีผลต่อการเจริญของ *E. faecalis* RKY1

Oh และคณะ (2005) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วย *E. faecalis* RKY1 ภายใต้การหมักแบบกะ ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 200 รอบต่อนาที โดยใช้ น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ข้าวสาลี ข้าวบาเลย์ และข้าวโพดด้วยเอนไซม์ เป็นแหล่งคาร์บอน ผล การทดลองพบว่า *E. faecalis* RKY1 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสและเปลี่ยนเป็นกรดแลกติกได้โดยไม่มีการ เติมนิโตรเจน ในกรณีการใช้สารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ข้าวบาเลย์และข้าวสาลีเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอัตราผลผลิตกรดแลกติกมีค่าสูงถึง 0.88 และ 0.81 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่ น้ำหนักเซลล์แห้งที่ได้มีค่าเท่ากับ 2.29 และ 1.67 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเติมน้ำแฉ่ ฟางข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจน (10 กรัมต่อลิตร) ลงในสารละลายที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ข้าวสาลีพบว่า *E. faecalis* RKY1 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในสารละลายได้มากขึ้น น้ำหนักเซลล์แห้งและกรด แลกติกที่ถูกสร้างขึ้นมีค่า 11.07 และ 102.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่อัตราผลผลิตกรดแลกติกมี ค่า 3.8 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง นอกจากนี้ผลการทดลองยังพบว่าการเติมนิโตรเจนจะช่วยลดระยะเวลาใน การหมักลงได้คือเหลือเพียง 27 ชั่วโมง เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใช้เวลาการหมัก 33 ชั่วโมง

Gao และคณะ (2006) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกจากการใช้กากเซลล์ยีสต์เป็นแหล่งอาหารเสริม โดยศึกษาการใช้ 1) กากเซลล์ยีสต์ที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ 2) กากเซลล์ยีสต์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วย ultrasonic 3) กากเซลล์ยีสต์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ และ 4) กากเซลล์ยีสต์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วย ultrasonic ร่วมกับการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ และเสริมด้วยยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ โดยใช้ แบคทีเรีย *Lb. rhamnosus* (NBRC 3863) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีความเข้มข้นกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์ที่ไม่ถูกไฮโดรไลซ์ กับการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์ที่ ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยวิธีต่างๆ พบว่าการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์ที่ถูกไฮโดรไลซ์ด้วย ultrasonic และ กรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ ก่อนนำมาหมักเพื่อผลิตกรดแลกติก ให้ผลผลิตของกรดแลกติก 60 และ 80 กรัมต่อ ลิตร คิดเป็นผลได้ 59.5 และ 85.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์ที่ไม่ ถูกไฮโดรไลซ์ (ผลผลิตกรดแลกติก 50 กรัมต่อลิตร คิดเป็นผลได้ 46.9 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งอาจเนื่องจากการ ไฮโดรไลซ์กากเซลล์ยีสต์ก่อนกระบวนการหมักทำให้จุลินทรีย์สามารถใช้สารอาหารที่มีในกากเซลล์ยีสต์ได้ ง่ายขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบผลของการไฮโดรไลซ์ของกากเซลล์ยีสต์ด้วยวิธีต่างๆ พบว่าการไฮโดรไลซ์กาก เซลล์ยีสต์ด้วยกรดซัลฟูริก และเสริมด้วยยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 5 กรัมต่อลิตร ได้ประสิทธิภาพการผลิตเอทา นอลสูงสุด โดยได้ความเข้มข้นของกรดแลกติก 100 กรัมต่อลิตร อัตราผลผลิตกรดแลกติก 2.62 กรัมต่อ ลิตรต่อชั่วโมง คิดเป็น ผลได้ 98.8 เปอร์เซ็นต์ ที่ระยะเวลาการหมัก 33 ชั่วโมง

Thani และคณะ (2006) พบว่า ชานอ้อยที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ในไฮโดรไลเซสที่ได้ประกอบด้วย น้ำตาล กลูโคส และน้ำตาลไซโลส โดยไฮโดรไลเซสชานอ้อยดังกล่าวไม่สามารถนำมาใช้หมักกรดแลกติกโดย *Lc. lactis* IO-1 ได้โดยตรง ยกเว้นเมื่อเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามยีสต์เอ็กซ์แทรกท์เป็น สารอาหารที่มีราคาแพง หากเติมเข้าไปในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจะทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้นมาก

Gao และคณะ (2007) ศึกษาการใช้ไฮโดรไลเซสจากของเสียจากปลา (fish wastes hydrolysate) ร่วมกับการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์และยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ในการผลิตกรดแลกติก โดย แบคทีเรีย *Lb. rhamnosus* (NBRC 3863) ในอาหารสังเคราะห์ที่ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม ต่อลิตร โซเดียมคลอไรด์ 0.01 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร

แมกนีเซียมซัลเฟต 2.0 กรัมต่อลิตร และเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์หรือไฮโดรไลเสทจากของเสียจากปลาหรือไฮโดรไลเสทผสมกับกากเซลล์ยีสต์ โดยของเสียจากปลาถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ ที่พีเอชเริ่มต้น 1.0 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ในขณะที่กากเซลล์ยีสต์ถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ ที่พีเอชเริ่มต้น 2.0 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ทำการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร ปริมาตรในการทำงาน 1 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 42 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 และอัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่า การใช้ไฮโดรไลเสทจากของเสียจากปลาซึ่งถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก ร่วมกับการเสริมด้วยกากเซลล์ยีสต์ให้ผลผลิตกรดแลคติก 97 กรัมต่อลิตร อัตราผลผลิต 2.26 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และคิดเป็นผลได้ 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใกล้เคียงกับการใช้ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์เพียงอย่างเดียว (ผลผลิตกรดแลคติก 100 กรัมต่อลิตร อัตราผลผลิตสูงสุด 2.33 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และผลได้ 98 เปอร์เซ็นต์)

Gao และคณะ (2008) ศึกษาการใช้รำข้าวเป็นแหล่งอาหารเสริมร่วมกับยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ ในการผลิตกรดแลคติก โดยใช้ *Lb. rhamnosus* NBRC 3863 การศึกษาใช้รำข้าวที่ไม่ผ่านการไฮโดรไลซ์ และรำข้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก 3 โมลาร์ ในอัตราส่วน 3 ต่อ 10 (โดยน้ำหนัก) ที่พีเอชเริ่มต้น 0.5, 1.0 และ 2.0 อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และแปรผันความเข้มข้นรำข้าวที่เติมลงในถังหมักเป็น 10, 20, 30 และ 40 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 3, 5 และ 7 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในถังหมักขนาด 2 ลิตร ปริมาตรในการทำงาน 1 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิที่ 42 องศาเซลเซียส และพีเอช 6.0 ผลการทดลองพบว่า การใช้รำข้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริกที่พีเอชเริ่มต้น 1.0 ความเข้มข้น 30 กรัมต่อลิตร ร่วมกับการใช้ยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 3 กรัมต่อลิตร ให้ประสิทธิภาพการผลิตกรดแลคติกสูงสุด โดยได้ความเข้มข้น อัตราผลผลิต และผลได้เท่ากับ 83 กรัมต่อลิตร 1.99 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง และ 96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Laopaiboon และคณะ (2010) ศึกษาการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยขนาด 5 มิลลิเมตรด้วยกรด โดยแปรผันกรดที่ใช้ 2 ชนิด คือ กรดไฮโดรคลอริก และกรดซัลฟูริก ที่ความเข้มข้น 0.5 – 5 เปอร์เซ็นต์ และแปรผันอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์ที่ 90 – 120 องศาเซลเซียส และ 0 – 5 ชั่วโมง ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการไฮโดรไลซ์ขานอ้อยคือ ใช้กรดไฮโดรคลอริก 0.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยไฮโดรไลเสทที่ได้ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคส 1.5 กรัมต่อลิตร และน้ำตาลไซโลส 22.5 กรัมต่อลิตร และมีปริมาณกรดอะซิติกและเฟอฟูรอล ซึ่งเป็นสารยับยั้งการหมักเกิดขึ้นเล็กน้อย เมื่อนำไฮโดรไลเสทขานอ้อยที่ผ่านการ detoxification แล้ว และเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 7 กรัมต่อลิตร ไปหมักเพื่อผลิตกรดแลคติกโดย *Lc. lactis* IO-1 พบว่าสามารถหมักกรดแลคติกได้เพียง 4.8 กรัมต่อลิตร และได้กรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักคือ 7.0 กรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสในน้ำหมักให้เป็น 30 กรัมต่อลิตร พบว่า ได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักคือ 10.9 กรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Thani และคณะ (2006) ที่รายงานว่าความเข้มข้นของน้ำตาลไซโลสเป็นตัวควบคุมวิเมแทบอลิซึมในการสร้างกรดแลคติก กล่าวคือ การใช้น้ำตาลไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักแบบกะ ผลได้ของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก (กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และเอทานอล) ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลไซโลส โดยถ้าความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลไซโลสตั้งแต่ 30 กรัมต่อลิตร ขึ้นไป จะได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก

Li และคณะ (2012) ศึกษาการใช้รำข้าวเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนในการผลิตกรดแลคติก โดยแบคทีเรีย *Lb. rhamnosus* LA-04-1 การไฮโดรไลซ์รำข้าวแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ 1) ไฮโดรไลซ์รำข้าวด้วยเอนไซม์อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส เพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และ 2) ส่วนของ

ตะกอนรำข้าวที่เหลือจากการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ถูกนำไปไฮโดรไลซ์ต่อด้วยกรดซัลฟูริก เมื่อหมักกรดแลคติกจากรำข้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ซึ่งมีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร และเติมตะกอนรำข้าวที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก และน้ำแช่ข้าวโพด อย่างละ 30 กรัมต่อลิตร ภายในถังหมักขนาด 5 ลิตร ปริมาตรในการทำงาน 2 ลิตร ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 42 องศาเซลเซียส และพีเอช 6.25 พบว่า ได้ความเข้มข้นกรดแลคติก ผลได้และอัตราผลผลิตเท่ากับ 85.33 กรัมต่อลิตร 0.85 และ 1.19 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ในขณะที่การหมักกรดแลคติกด้วยอาหารสังเคราะห์ ที่มีความเข้มข้นน้ำตาลกลูโคส 100 กรัมต่อลิตร และเติมยีสต์เอ็กซ์แทรกท์ 15 กรัมต่อลิตร ได้ความเข้มข้นกรดแลคติกผลได้ และอัตราผลผลิตเท่ากับ 76.00 กรัมต่อลิตร 0.76 และ 1.06 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ